

P_n 6403 B

ISSN 0181-1594

CRYPTOGAMIE

MYCOLOGIE

TOME 11 Fascicule 3 1990

LABORATOIRE DE CRYPTOLOGAMIE
MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
12, RUE BUFFON, 75005 PARIS

PUBLICATION TRIMESTRIELLE

Septembre 1990

Source: MNHN Paris

SOMMAIRE

J.C. LÉGER et P. LANQUETIN - Morphologie et caractères cultureux d' <i>Hymenochaete adusta</i> (Lév.) Hariot et Patouillard	157
M.L. BOUILLANT, J. BERNILLON, J. FAVRE-BONVIN, L. SOULIER et N. SALIN - Etude comparative des dimères du dihydroxy-5,8 naphthalène précurseurs des mélanines chez les champignons	167
J. BOIDIN - Répertoire des données utiles pour effectuer les tests d'intercompatibilité chez les Basidiomycètes. VI. - Aphyllophorales non porées (Premier supplément)	175
S. MARAKIS and S. DIAMANTOGLU - Enrichment of deseeded carob pod with fungal protein	189
A. BELLEMÈRE, M.C. MALHERBE, H. CHACUN et L.M. MELÉNDEZ-HOWELL - L'étude ultrastructurale des asques et des ascospores de l' <i>Urnula helvelloides</i> Donadini, Berthet et Astier et les concepts d'asque suboperculé et de Sarcosomataceae	203
Analyses bibliographiques	239

CONTENTS

J.C. LÉGER et P. LANQUETIN - Morphology and cultural characteristics of <i>Hymenochaete adusta</i> (Lév.) Hariot et Patouillard (In French)	157
M.L. BOUILLANT, J. BERNILLON, J. FAVRE-BONVIN, L. SOULIER et N. SALIN - Comparative study of 5,8-dihydroxy-naphthalen dimers, melanin precursors in fungi (In French)	167
J. BOIDIN - Indices of useful informations for intercompatibility tests in Basidiomycetes VI. - Non poroid Aphyllophorales (First supplement)	175
S. MARAKIS and S. DIAMANTOGLU - Enrichment of deseeded carob pod with fungal protein	189
A. BELLEMÈRE, M.C. MALHERBE, H. CHACUN et L.M. MELÉNDEZ-HOWELL - Ultrastructural studies of asci and ascospores in <i>Urnula helvelloides</i> Donadini, Berthet et Astier and the concepts of suboperculate ascus and Sarcosomataceae	203
Bibliography	239

CRYPTOGAMIE

MYCOLOGIE

TOME 11 Fascicule 3 1990

Ancienne Revue de Mycologie. Dirigée par Roger HEIM

DIRECTEUR SCIENTIFIQUE : Madame J. NICOT
SECRÉTAIRE DE RÉDACTION : Mme M.-C. BOISSELIER. ÉDITEUR : A.D.A.C.

Publié avec le concours du Muséum National d'Histoire Naturelle

CRYPTOGAMIE, MYCOLOGIE est indexé par : *Biological Abstracts, Current Contents,*
Publications bibliographiques du CDST (Pascal).

© Copyright 1990. Cryptogamic Mycologie.



Bibliothèque Centrale Muséum



3 3001 00226866 1

Source : MNHN, Paris

MORPHOLOGIE ET CARACTÈRES CULTURAUX D'*HYMENOCHAETE ADUSTA* (LÉV.) HARIOT et PATOUILARD

par J.C. LÉGER et P. LANQUETIN

Laboratoire de Biotaxinomie et Nuisances fongiques,
Univ. Claude Bernard-Lyon I, Bât. 405,
43 Bd du 11 Novembre 1918,
F-69622 Villeurbanne Cedex.

RÉSUMÉ - L'étude d'une récolte thaïlandaise d'*Hymenochaete adusta* permet aux auteurs de donner pour la première fois les caractères cultureux et de compléter les données concernant la morphologie de cette espèce asiatique méconnue.

ABSTRACT - A Thailander collect of *Hymenochaete adusta* allowed the authors to determine for the first time the cultural characteristics and to give complements on the morphology of this Asian species.

MOTS CLÉS : *Hymenochaete*, systématique, cultures.

DESCRIPTION

Hymenochaete adusta (Lév.) Hariot et Pat., *J. Bot. (Morot.)* 17: 7, 1903; G. Bresadola, *Hedwigia* 51: 323, 1912; P.W. Graff, *Bull. Torrey Bot. Club* 45: 457, 1918; R. Imazeki, *Bull. Tokyo Sci. Mus.* 2: 10, 1940; S. Ito, *Myc. Fl. Japan* 2: 158, 1955; K. Aoshima et H. Furukawa, *Trans. Mycol. Soc. Japan* 7: 12, 1966.

= *Stereum adustum* Lév., *Ann. Sci. Nat., Bot.*, 3^e sér., 3: 213, 1844.

= *Thelephora adusta* Lév., in Gaudichaud, *Voy. Bonite, Bot.*, pl. 139, f. 2, 1846.

Lectotype: *Thelephora adusta* Lév., Gaudichaud, *Voy. Bonite, ex herb. Berk.* 1879 (K).

Chapeaux sessiles, imbriqués, soudés et appliqués les uns au-dessus des autres, atteignant 5 x 6 cm, minces, coriaces, cassants. Surface du chapeau brun foncé (5 YR 3/3, 3/4 à 2/4 du Code Munsell) allant de chocolat foncé

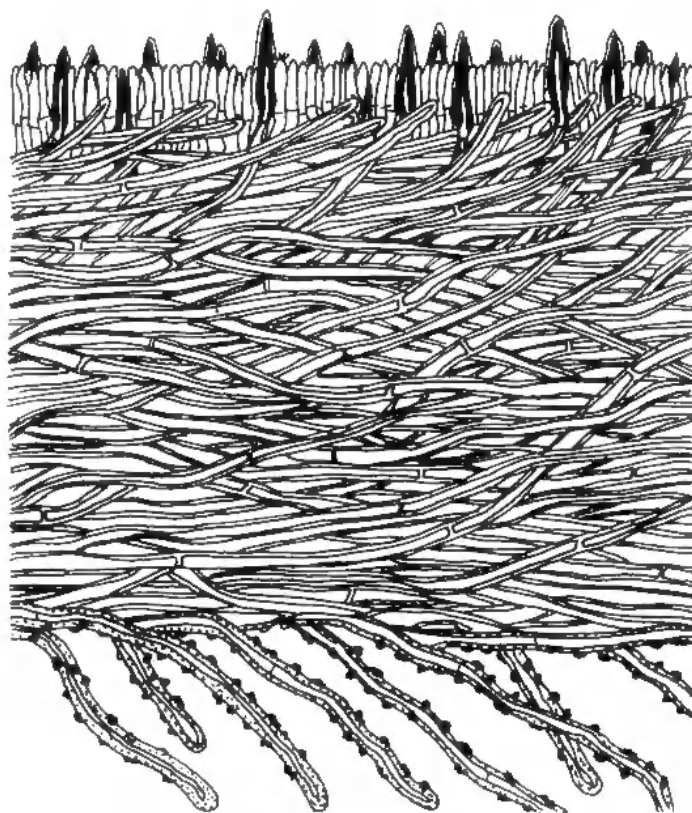
I 10 μ m

Fig. 1 - *Hymenochaete adusta* (Lév.) Har. et Pat. Coupe transversale dans le basidiome de *Thelephora* (*Hymenochaete*) *adusta* Lév., Gaudichaud (Herb. Kew).

Fig. 1 - *Hymenochaete adusta* (Lév.) Har. et Pat. Transverse section through the basidiocarp of *Thelephora* (*Hymenochaete*) *adusta* Lév., Gaudichaud (Kew Herb).

à Argus brown, très finement veloutée, sillonnée de très nombreuses stries concentriques étroites, les unes rares, plus claires, mais la plupart très foncées, presque noires donnant assez souvent une couleur générale noirâtre (jusqu'à 7,5 YR 2/0), comme si le chapeau avait été brûlé (*adustus*); parfois quelques vagues plis radiaux. Marge concolore ondulée à crénelée. Surface hyménienne d'un brun plus clair, le plus souvent teintée de jaunâtre, parfois légèrement cendrée (10 YR 5/4 = Saccardo's umber de Ridgway à 7,5 YR 4/2 = mummy brown R. et 2,5 YR 5/2 = cinnamon drab R.) avec quelques plis radiaux et quelques ondulations concentriques de faible relief.

Tomentum formant un velours ras, de 100 μ m maximum d'épaisseur mais souvent moins, formé d'hyphes à paroi très épaisse (jusqu'à 2 μ m), non ramifiées, pourvues de quelques cloisons minces, à surface grenue et portant de nombreuses granulations brun rouge, non cristallines, à extrémité arrondie, x 4-5-(6) μ m.

Cortex absent.

Trame monomitique de 200-450-(500) μ m d'épaisseur, formée, outre le tomentum, d'une couche sétigère et d'un contexte dépourvu de spinules. Contexte de 100 à 350 μ m d'épaisseur, constitué d'hyphes brun rouge, à paroi épaissie, septées, peu ramifiées, disposées parallèlement à la surface du chapeau, très serrées entre elles puis se redressant en direction de l'hyménium, x 2,5-3,5 μ m.

Spinules nombreuses, fusiformes courtes, peu pointues, (18)-20-25-(30) x 4-5 μ m, à paroi très épaisse (souvent 2 μ m), très peu émergentes au-dessus de l'hyménium (8-10 μ m le plus souvent et 15 μ m au plus), presque toutes engainées par les restes plus ou moins déchirés d'une sorte d'étui mince et hyalin. Ces spinules sont disposées soit sur un seul rang, naissant alors à la base de l'hyménium où viennent se terminer obliquement de nombreuses hyphes du contexte (Fig. 1) soit en une couche sétigère de 50-60-(120) μ m, marquée à sa base d'une zone plus obscure (Fig. 2).

Hyménium extrêmement fragile, formé de basidioles et de basides d'environ 12 x 3 μ m (en très mauvais état ou absentes de plusieurs spécimens examinés).

Spores elliptiques courtes, non amyloïdes, uninucléées, 3-3,5 x 1,5-1,8 μ m dans le spécimen LY-L 586 (Fig. 2) et absentes dans toutes les autres récoltes étudiées.

Spécimens examinés:

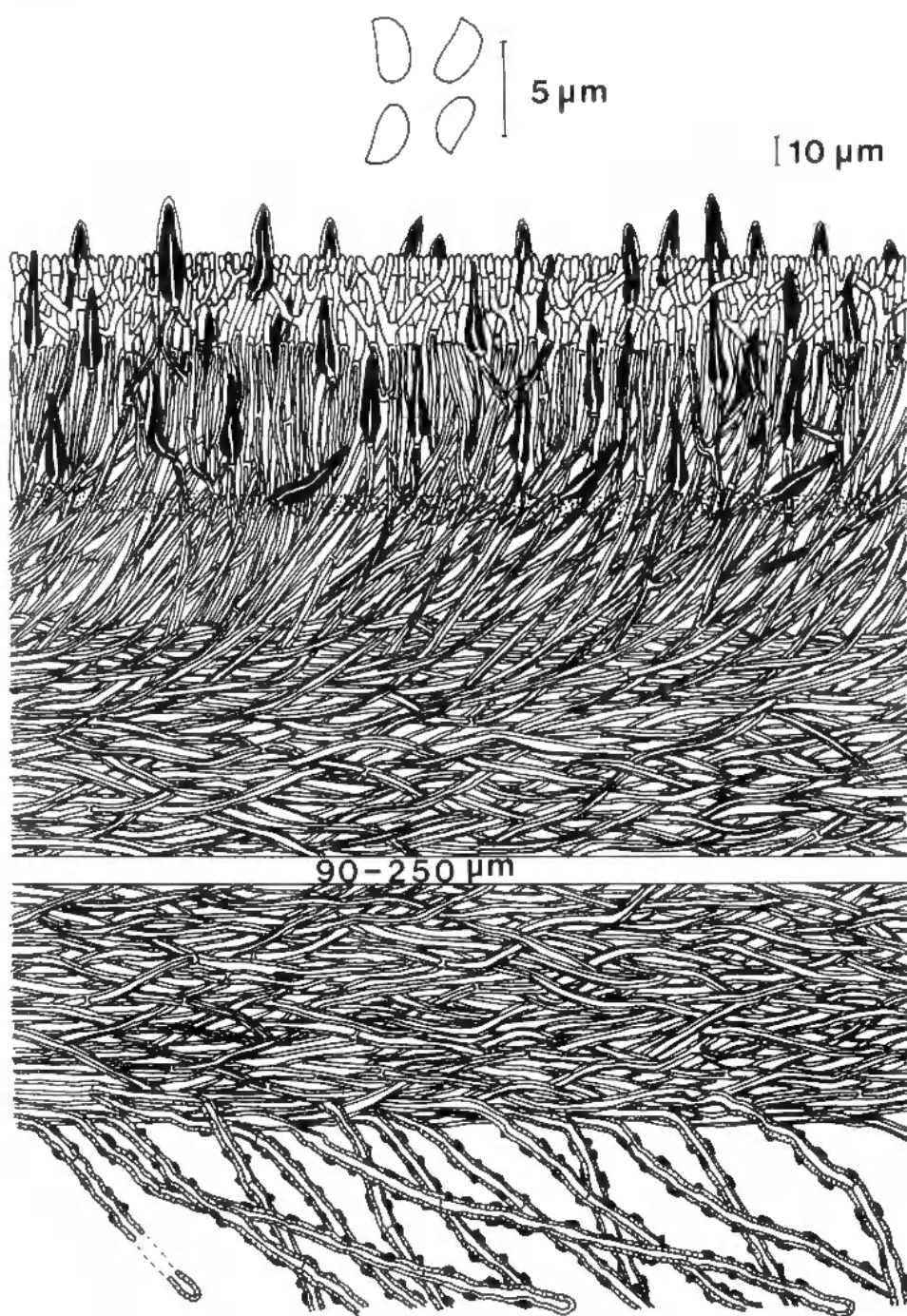
Thelephora (Hymenochaete) adusta Lév., Gaudichaud, Voy. Bonite, ex herb. Berk. 1879 (K); syntype que nous proposons comme lectotype.

Stereum adustum Lév.! orig. Manilla (S). Syntype.

Hymenochaete adusta (Lév.) Bres., Mindanao, Davao, Todajas; Elmer 10607 (S).

Hymenochaete adusta (Lév.) Bres., Mindanao, 1906, coll. Elmer, herb. Romell ex herb. J. Bresadola. (S).

Hymenochaete adusta (Lév.) Bres., Province of Bataan, Luzon, Philippines. Coll. P.W. Graff, nov. 1912. Herb. Bureau of Sciences, Manila, 19065 (S).



Hymenochaete adusta (Lév.) Bres., on rotting log. Mt Maquiling near Los Banos, Province Laguna, Philippines. *Det.* Patouillard, dec. 1913. *Fungi Malayana* c.f. Baker 33. (S).

Hymenochaete adusta Lév., on dead wood. Philippines Islands. Los Banos, Laguna. May 1917. *Coll.* T. Collado. *Det.* N. Patouillard. *Ex herb.* of Dr. G.H. Cunningham, n° 8064. (PDD).

Hymenochaete adusta (Lév.) Hariot et Patouillard, Parc Kao Yai (Korat), Thaïlande. *Leg.* Dauvergne, 26 mars 1989. *Det.* J.C. Lèger. N° LY-L 586 (LY).

Répartition géographique: Philippines, Thaïlande.

In litt.: Vietnam (Patouillard, 1923 et 1928), Japon (Imazeki, 1940; Ito, 1955; Aoshima & Furukawa, 1966).

Imazeki indique que *H. adusta* provoque une pourriture blanche en logettes dans le bois de feuillus et cite une récolte sur *Distylium racemosum*.

Discussion:

Hymenochaete adusta (Lév.) Hariot et Pat. appartient à la section *Fultrichaete* Escobar (1978) qui groupe les espèces sans cortex possédant un contexte dépourvu de spinules bien développé. L'espèce la plus ressemblante est *Hymenochaete cacao* (Berk.) Berk. qui se distingue d' *H. adusta* par une couleur différente du chapeau, par des spinules très serrées un peu plus grandes et légèrement plus exsertes, par des traînées d'hyphes agglutinées dans le contexte évoquant des cortex et par les spores plus grandes. Les deux espèces sont cependant très proches et se rencontrent aux Philippines: contrairement à *H. cacao*, *H. adusta* n'a jamais été signalé en Amérique Centrale et du Sud. Jusqu'ici, les seules données récentes concernant les spores étaient celles d'Aoshima & Furukawa (2,5-3,5 x 2-2,5µm) qui dessinent des spores plus ovales que celles que nous avons observées.

L'une des particularités de cette espèce, non signalée auparavant, est la présence d'un mince étui hyalin autour de la plupart des spinules. Il s'agit

Fig. 2 - *Hymenochaete adusta* (Lév.) Har. et Pat., spécimen LY-L 586. Coupe transversale dans le basidiome et spores observées sur sporée dans le mélange phloxine-KOH 5 %.

Fig. 2 - *Hymenochaete adusta* (Lév.) Har. et Pat., collection LY-L 586. Transverse section through the basidiocarp and spores observed on a spore print in 5% KOH-phloxine.

d'une formation semblable à la gaine membranaire ("membranous sheath") décrite par Gilbertson & Lindsey (1978) à propos de *H. arida* Karst.

Signalons enfin que la dénomination *H. adusta* (Lév.) Bres., utilisée par tous les mycologues depuis l'article de Bresadola (1912), doit céder la place à *H. adusta* (Lév.) Hariot et Patouillard puisque ces auteurs écrivaient dès 1903: "la présence de ces cystides doit faire rattacher le *Thelephora adusta* au genre *Hymenochaete* sous le nom de *H. adusta* (Lév.)."

CARACTERES CULTURAUX (LY-L 586)

Spores: uninucléées.

Monospermes: les germinations, apparues 5 jours après dispersion des spores, se sont bien développées. Les cultures monospermes ont même aspect et microscopie que les cultures polyspermes; leurs hyphes sont constituées d'articles binucléés et de nombreuses séries d'articles tri- ou tetranucléés; quelques séries d'articles à 5 noyaux ont été observées. L'espèce est présumée homothalle.

Polyspermes:

- croissance: rapide (boîtes couvertes à 3 semaines).
- aspect: marge régulière; mycélium jeune blanchâtre à alutacé (2,5 YR 8/2 à 8/4), laineux, élevé jusqu'à la marge. A 6 semaines, sur milieu brun, mycélium laineux, plus dense à l'obscurité, localement teinté de 10 YR 8/3 à 7,5 YR 8/4 sur la bouture et contre le verre à la périphérie, mais partout ailleurs uniformément cannelle pâle 10 YR 6/6 à cannelle 7,5 YR 6/6 à 6/8.
- revers: fortement brun, vers chestnut brown R., 2,5 YR 3/4 ou plutôt dark reddish brown, 2,5 YR 2/4; certaines cultures seulement ont montré de fines lignes brunes et sombres dans les parties chestnut brown.
- odeur: nulle.
- microscopie:
 - * mycélium aérien montrant :
 - des hyphes régulières, sans boucles, à contenu homogène, à paroi mince, hyaline ou brunâtre, un peu épaissie chez les plus larges. Les hyphes principales larges, x 4-5,5-(6)µm, contrastent avec les hyphes secondaires, x 1,5-2,5-(3)µm.
 - de fines dendrophyses, nées sur les hyphes secondaires, touffues, hyalines ou brunâtres, formées d'hyphes grêles, x 1-1,2µm, très densément ramifiées, aux extrémités courtes, non raides (Fig. 3 A).
 - de rares drépanocystes (figurés in Léger & Lanquetin, 1987).
 - * mycélium submergé montrant des hyphes principales larges, x 4-5-(6)µm, à contenu homogène, à paroi brunie, mince ou épaisse jusqu'à 0,5µm et

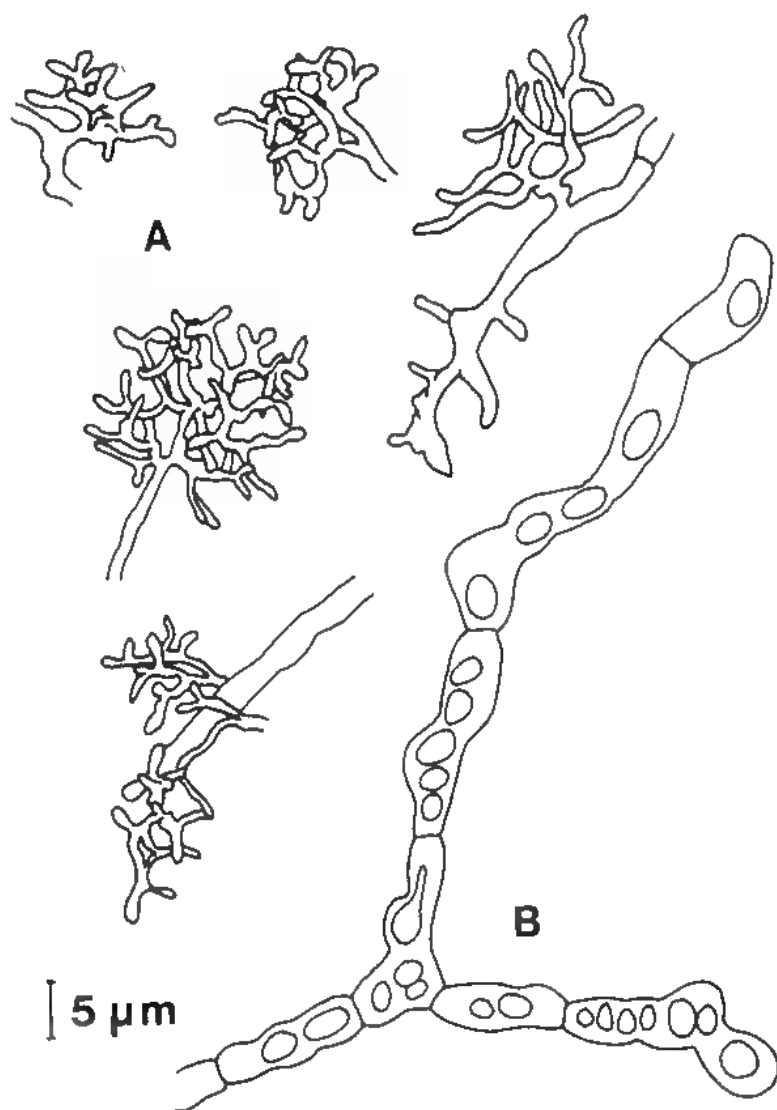


Fig. 3 - Cultures d' *Hymenochaete adusta* (Lév.) Har. et Pat. (LY-L 586). A: dendrophyses dans le mycélium aérien. B: hyphes dans le mycélium submergé.

Fig. 3 Cultures of *Hymenochaete adusta* (Lév.) Har. et Pat. (LY-L 586). A: dendrophyses in the aerial mycelium. B: hyphae in the submerged mycelium.

des hyphes secondaires plutôt irrégulières, x 1,75-3µm, à paroi mince jaunâtre, à contenu hétérogène riche en vacuoles et à cloisons souvent un peu rétrécies (Fig. 3 B).

N.B.: les lignes étroites brun sombre observées sur le revers de 2 cultures sur 6 sont constituées par un tissu coriace d'hyphes imbriquées en puzzle dont la structure est plutôt fine. Le mycélium de *H. adusta* est donc capable de fabriquer occasionnellement ce tissu caractéristique du genre.

- cytologie: hyphes montrant des articles binucléés avec de fréquentes séries d'articles à 3, 4, 5 et exceptionnellement 6 noyaux.

- oxydases:

acide gallique: + + + + +, 7mm gaïacol: + +, 0

paracrésol: - tyrosine: +, tr.

CODE (selon Nobles, 1965 complété par Boidin & Lanquetin, 1983):

2a - 6 - (11) - 28d - 32 - 37 - 39 - 43 - (57) - 61H

(code 28d proposé par Job, 1986: code 61H indique qu'après une phase uninucléée fugace le mycélium passe au stade dicaryotique sans plasmogamie).

Le mycélium de *H. adusta* est bien caractérisé par sa croissance rapide et ses fines dendrophyses. Après *H. pinnatifida* Burt (voir Job, 1986) et *H. berteroi* Pat. (voir Léger & Lanquetin, 1987), c'est la troisième espèce du genre à montrer des dendrophyses dans les cultures. Toutefois *H. pinnatifida* et *H. berteroi* ont une croissance bien plus lente. D'autre part le mycélium d'*H. pinnatifida* montre, - en plus de dendrophyses -, des hyphes "acanthophysoïdes" (non signalées par Job). Quant à *H. berteroi*, ses cultures ont un aspect très caractéristique avec de nombreuses lignes sinueuses ou crêtes en relief.

BIBLIOGRAPHIE

- AOSHIMA K. and FURUKAWA H., 1966 - *H. adusta* (Lév.) Bres. and *H. villosa* (Lév.) Bres. *Trans. Mycol. Soc. Jap.* 7: 12-15.
- BOIDIN J. et LANQUETIN P., 1983 - Basidiomycètes Aphyllophorales épithéloïdes étalés. *Mycotaxon* 16: 461-499.
- BRESADOLA G., 1912 - Basidiomycetes Philippinenses. *Hedwigia* 51: 306-326.
- ESCOBAR G.A., 1978 - Contributions towards a monograph of the neotropical species of *Hymenochaete*. Ph. D. dissertation, Univ. Washington, 277p.
- GILBERTSON R.L. and LINDSEY J.P., 1978 - Basidiomycetes that decay Junipers in Arizona. *Great Basin Natur.* 38: 42-48.
- HARIOT P. et PATOUILLARD N., 1903 - Quelques Champignons de la Nouvelle-Calédonie, de la collection du Muséum. *J. Bot. (Morot)* 17: 6-15.

- IMAZEKI R., 1940 - Studies on the genus *Hymenochaete* of Japan. *Bull. Tokyo Sci. Mus.*, 2: 1-22 (5pl.).
- ITO S., 1955 - *Mycological Flora of Japan*. Vol. 2: Basidiomycetes; n° 4, Auriculariales, Tremellales, Dacryomycetales, Aphyllophorales (Polyporales). Tokyo, Yokendo Ltd, 450 p.
- JOB D., 1986 - Cultural and cytological studies in the genus *Hymenochaete* Lév. *Mycotaxon* 26: 223-234.
- LÉGER J.C. et LANQUETIN P., 1987 - Basidiomycètes Aphyllophorales de l'Île de la Réunion. VII. Le genre *Hymenochaete* Lév. *Bull. Soc. Mycol. France* 103: 19-53.
- MUNSELL soil color charts, 1954 - Baltimore, U.S.A., Munsell Color Company.
- NOBLES M.K., 1965 - Identification of culture of wood-inhabiting Hymenomycetes. *Canad. J. Bot.* 43: 1097-1139.
- PATOUILLARD N., 1923 - Contribution à l'étude des champignons de l'Annam. *Bull. Mus. Nat. Hist. Nat.*, Paris, 29: 332-339.
- PATOUILLARD N., 1928 - Nouvelle contribution à la flore mycologique de l'Annam et du Laos. *Ann. Cryptog. Exot.*, 1: 2-24.
- RIDGWAY R., 1912 - *Color standards and color nomenclature*. Washington, U.S.A., Ridgway Ed.

ÉTUDE COMPARATIVE DES DIMÈRES DU DIHYDROXY-5,8 NAPHTALÈNE PRÉCURSEURS DES MÉLANINES CHEZ LES CHAMPIGNONS

M.L. BOUILLANT*, J. BERNILLON, J. FAVRE-BONVIN, L. SOULIER
et N. SALIN

Laboratoire de Mycologie, Université Claude-
Bernard, Lyon I, 69622 Villeurbanne Cedex

RÉSUMÉ - Un dimère du dihydroxy-5,8 naphthalène: le bis-2,2' naphthalénetétrol-1,1',8,8', un nouveau précurseur de la mélanine chez *Sordaria macrospora* a été isolé de ce Champignon. Sa structure chimique a été démontrée par des méthodes spectrales, en comparaison avec son isomère: le bis-4,4' naphthalénetétrol-1,1',8,8' présent chez d'autres champignons.

ABSTRACT - A dimer of 5,8-dihydroxy-naphthalen: 2,2'-bisnaphthalen-1,1',8,8'-tetrol, a new melanin precursor in *Sordaria macrospora*, has been isolated from this fungus. Its chemical structure has been demonstrated by spectral methods, by comparison with its isomer: 4,4'-bisnaphthalen-1,1',8,8'-tetrol isolated from other fungi.

MOTS CLÉS : *Sordaria macrospora*, *Daldinia concentrica*, Ascomycètes, mélanine, dihydroxy-5,8 naphthalène, bis-2,2' naphthalénetétrol-1,1',8,8', bis-4,4' naphthalénetétrol-1,1',8,8'.

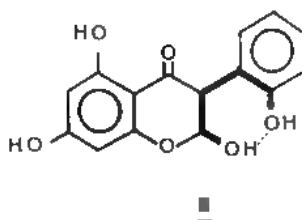
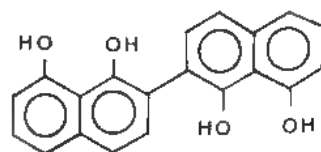
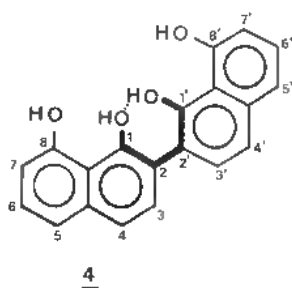
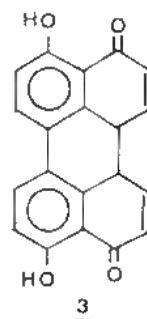
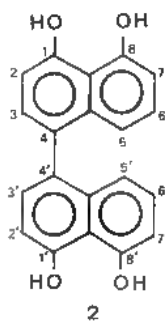
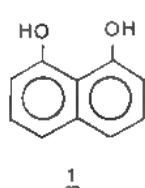
INTRODUCTION

Il a été récemment montré (voir les mises au point de Bell & Wheeler, 1986; Wheeler & Bell, 1988) que chez certains Hyphomycètes et Ascomycètes, la formation des mélanines s'effectuait par une voie de biosynthèse dérivée de condensations polyacétyliques, dite du dihydroxy-1,8 naphthalène (DHN, 1, Fig. 1). Si les différentes étapes conduisant au DHN semblent bien établies, par contre, les réactions de polymérisation ultérieures de ce monomère le sont beaucoup moins.

* Adresse actuelle: Laboratoire d'Ecologie Microbienne (URA 697). Univ. Cl. Bernard, Lyon I, 69622 Villeurbanne Cedex.

Un dimère du DHN (**2**) a cependant été découvert chez plusieurs Xylariales: d'abord chez *Daldinia concentrica* (Bu'Lock & Allport, 1957; Allport & Bu'Lock, 1958, 1960), où il s'accumule en grande quantité dans le carpophore mûr et où sa structure chimique a été établie en comparant les dérivés acétylés des produits naturel et synthétique; il est également présent chez *Hypoxyton fuscus* (Gunawan, 1982). Ce bis-4,4'DHN donne facilement la pérylène quinone **3** isolée des mêmes champignons mais aussi d'autres Xylariales: *Bulgaria inquinans* (Edwards & Lockett, 1976), *Hypoxyton scleropheum* (Whalley & Whalley, 1977).

Nous avons précédemment démontré (Bouillant et al., 1989) que la mélanogénèse de l'Ascomycète *Sordaria macrospora* s'effectuait également par la voie du DHN. Nous décrivons maintenant l'isolement et la caractérisation du dimère **4** (bis-2,2'DHN), issu d'un autre type de dimérisation de **1** et, selon toute vraisemblance, précurseur de la mélanine



chez ce champignon. Ce composé n'a jamais été décrit à l'état naturel, ni synthétisé. Cependant, dans les mises au point précitées, Bell & Wheeler le considèrent comme un précurseur possible de la mélanine. Au cours de cette étude, nous comparons les diverses propriétés spectrales et chromatographiques des dimères **2** et **4** qui se trouvent ainsi caractérisés pour la première fois par des techniques modernes d'identification.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Appareillage utilisé

Les spectres U.V. ont été enregistrés sur un appareil Kontron (Uvicon 810); les spectres de masse en IE (70 eV) sur un spectrographe MN 305 (VG), en FAB sur un appareil ZAB 3F (VG); les spectres de RMN¹H, à 300 MHz, sur un appareil Bruker, AM 300.

Isolement des composés

1 - Isolement du dimère **2** à partir du carpophore de *D. concentrica*.

Un carpophore mûr de *Daldinia concentrica* (Bolton) Ces. & de Not récolté *in natura* (Ø environ 6cm), est coupé puis broyé au mortier. La poudre obtenue est extraite à température ambiante par 300ml d'hexane (extrait non retenu), puis, par le même volume d'AcOEt. La solution obtenue, qui présente une intense fluorescence bleue à 360nm, est concentrée sous vide à petit volume et le résidu purifié par CCM à centrifugation (Chromatotron), en atmosphère inerte, dans le solvant Hexane-AcOEt-MeOH 6:4:1. Le produit est examiné le plus rapidement possible en ¹H RMN, SM et UV, puis soumis à acétylation. SM:FAB, M-H⁺ à m/z 317.

2 - Acétylation du dimère **2**.

215mg sont dissous dans 5ml d'Ac₂O additionnés d'une quantité catalytique de diméthylaminopyridine. Après 24h à température ambiante, la solution est versée sur un mélange eau-glace et, après repos, le précipité obtenu est filtré, lavé à l'eau jusqu'à neutralité et recristallisé dans AcOEt. Après deux cristallisations on obtient 46mg de cristaux blanc-crème, purs en CCM. F = 244°C (Litt. Allport & Bu'Lock, 1960, 245°C).

Spectre UV λ max/MeOH: nm (ϵ) 232, 280 ep., 295 (15000), 302 ep.; λ max/MeOH + OH⁻: nm 335, 348.

Spectre de masse: m/z (int. rel. %), M⁺ 486 (11), 444 (13), 402 (29), 360 (34), 318 (100), 299 (26), 289 (6), 271 (12), 213 (6).

3 - Isolement du dimère **4** à partir des milieux de culture de *S. macrospora*.

La souche sauvage de *Sordaria macrospora* (Auersw.) est ensemencée dans 150 erlens contenant chacun 50ml de milieu (Bouillant et al., 1989) et les cultures sont incubées à 24-25°C pendant 4 jours. Après avoir été séparés du mycélium par filtration, les milieux de cultures sont extraits 2 fois par le même volume d'AcOEt et les extraits concentrés à sec. Toutes les opérations de purification ont ensuite été conduites le plus rapidement possible en évitant au maximum lumière et oxygène. Les résidus repris par le minimum de MeOH sont d'abord passés en 3 fois sur 6 colonnes Sepak C₁₈ (Waters) lavés par H₂O (100ml), MeOH 30% (100ml) puis MeOH 80% qui élue la fluorescence bleue. Les extraits issus de cette prépurification sont concentrés à sec et purifiés par HPLC préparative sur colonne en phase inverse (Microbondapak C₁₈, 10μ, 0.4 x 30mm), dans l'acétonitrile 60%. Par concentration à sec on obtient un produit amorphe, pur en CCM et HPLC, qui est *pro parte* utilisé pour la RMN et la SM et *pro parte* immédiatement acétylé.

Spectre UV: voir Tab. I; SM: FAB, M-H⁺ à m/z 317.

4 - Acétylation du dimère 4.

Cette réaction a été effectuée dans les conditions décrites pour le composé 2. Après hydrolyse du mélange réactionnel par le mélange eau-glace, un précipité huileux, impossible à filtrer, est obtenu. Après extraction par l'AcOEt et lavage à l'eau jusqu'à neutralité, on obtient, après évaporation et purification sur CCM dans Hexane-AcOEt 6:4, un dérivé acétylé (4a) chromatographiquement pur mais qui n'a pu être cristallisé.

SM: m/z (int. rel.%). M⁺ 486 (0.8), 444 (10), 402 (25), 384 (22), 342 (100), 318 (78), 317 (22), 301 (21), 300 (88), 299 (20), 286 (5), 271 (14), 213 (6).

Cinétique de production du composé 4

La même souche est ensemencée dans 22 erlens contenant chacun 50ml du milieu précédent et mise en culture à 24°C, en conditions lumière-obscurité 12h-12h. Deux erlens sont prélevés chaque jour, pendant 11 jours, et les milieux de culture filtrés et congelés. A la fin du cycle de culture, les milieux sont extraits par AcOEt (2 fois 100ml par jour) et dosés en HPLC (colonne analytique en phase inverse C₁₈), dans l'acétonitrile à 60%.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Le bis-4,4'naphtalénététrol-1,1',8,8' (2) et le bis-2,2'naphtalénététrol-1,1',8,8' (4) ont des comportements spectraux et chromatographiques très différents (voir Tabl. I):

- le spectre UV du composé 2 (λ max/MeOH nm: 226, 311, 324, 338) se rapproche beaucoup de celui du monomère 1 (λ max/MeOH nm: 225, 293ep., 306, 320, 334) le groupement chromophore n'étant pas modifié par

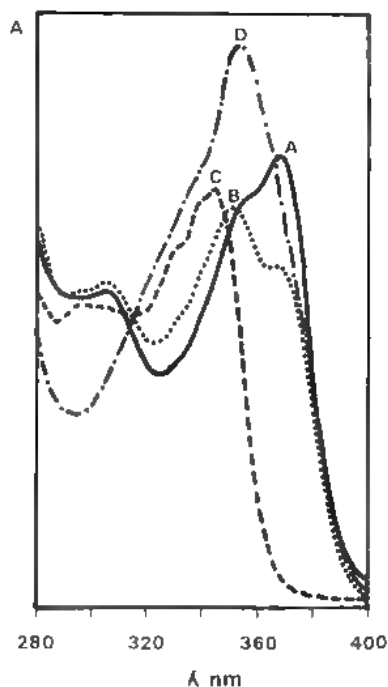


Fig. 2. - Spectre UV du composé 4: A/ MeOH, B: id. 2 mn à 60-70°C, C/ id. + H⁺, D: id. + OH⁻.

Fig. 2. - UV spectrum of compound 4: A/ MeOH, B: id. 2 min. at 60-70°C, C/ id. + H⁺, D: id. + OH⁻.

cette *para* dimérisation. Par contre la proximité spatiale des hydroxyles en 8 et 1' chez 4 se traduit par une forte bathochromie (Fig. 2, spectre A). Cependant, un déplacement hypsochrome important (20nm) peut être obtenu par simple chauffage (spectre B), acidification (spectre C) ou alcalinisation (spectre D). Ce phénomène peut, selon toute vraisemblance, être attribué à l'existence d'une liaison H entre deux hydroxyles. Nous avons observé les mêmes anomalies spectrales avec la datiscétine (5), un flavonoïde qui possède le même type de substitution. La forme non liée semble chimiquement favorisée.

Tableau 1: Propriétés chromatographiques et spectrales UV des composés 2 et 4.
Table 1: Chromatographic and spectral UV properties of compounds 2 and 4.

	CLHP(Tr min.) ^a	CCM ^b 1	CCM ^b 2	Spectre UV ^c
2	3.2	0.80	0.80	226,311,324,338
4	4	0.23	0.80	222,266,303,351ép.,366
1	-	0.87	0.87	225,293ép.,306,320
Sordariol*	2.5	0.25	0.25	

a: colonne Microbondapak C₁₈, ACN 60%, débit 1ml/min, détection à 254 et 354nm; b: Plaques de gel de silice F₂₅₄: 1 - Hexane-AcOEt-MeOH 6:4:1, 2 - id. avec 1 goutte d'AcOH ou d'HCl, c: dans MeOH. * Bouillant et al. 1988.

- le comportement chromatographique en CCM (gel de Silice) montre aussi de grandes différences entre **2** et **4**. Cependant, l'addition d'une trace d'acide dans le solvant suffit à redonner au composé **4** un Rf normal, identique à celui de **2**, plus en rapport avec sa lipophilie théorique.

Les spectres de RMN¹H des composés natifs et de leurs dérivés acétylés **2a** et **4a** sont reportés dans le Tableau 2.

Tableau 2 - Données de RMN¹H pour les composés **2** et **4** et leurs acétates **2a** et **4a**.*

Table 2: ¹H NMR data for compounds **2** and **4** and their acetates **2a** and **4a**.

H	2	4	2a	4a
2	6, 81 d (7,7)	-	7, 24 d (7,7)	-
3	7, 15 d (7,7)	7, 27 d (8,7)	7, 47 d (7,7)	7, 82 d (8,4)
4	-	7, 51 d (8,7)	-	7, 84 d (8,4)
5	6, 69 d (8)	7, 21 d (4,3)	7, 14 dd (5,6-3)	7, 41 d (8,5)
6	7, 03 t (8)	7, 21 d (4,3)	7,30 m	7, 51 t (7,9)
7	6, 69 d (8)	6, 66 t (4,3)	7, 36 m	7, 17 d (7,6)
OAc	-	-	2, 46 & 2, 47	2, 37 & 1, 98

* **2** et **4** dans CD₃OD, **2a** et **4a** dans CDCl₃; δ ppm (J Hz), ref. TMS.

Dans le spectre des composés natifs, les différences de déplacements chimiques entre les couples de H *ortho*: H2 et H3 de **2** et H3 et H4 de **4**, traduisent leur position au voisinage (**2**) ou non (**4**) d'un groupement OH. Le couplage de J = 4,3 Hz (couplage virtuel) obtenu avec les H en 5,6 et 7 du composé **2** est également remarquable.

Le spectre du dérivé acétylé de **4** permet de mettre en évidence un empêchement de rotation qui se traduit par l'élargissement du signal d'un des groupements acétyles, lequel peut être affiné par simple chauffage. Le déplacement chimique de ce signal (1,98 ppm), insolite pour un groupement acétyle aromatique, prouve sa localisation dans le cône de blindage d'un noyau aromatique.

Le spectre de masse en IE des dérivés acétylés **2a** et **4a** montre la présence d'ions correspondant aux pertes successives des groupements acétyles, avec cependant, dans le spectre du composé **4a**, la présence d'un ion correspondant à M-2Ac-H₂O ou à M-Ac-AcOH, inexistant dans celui du composé **2a**.

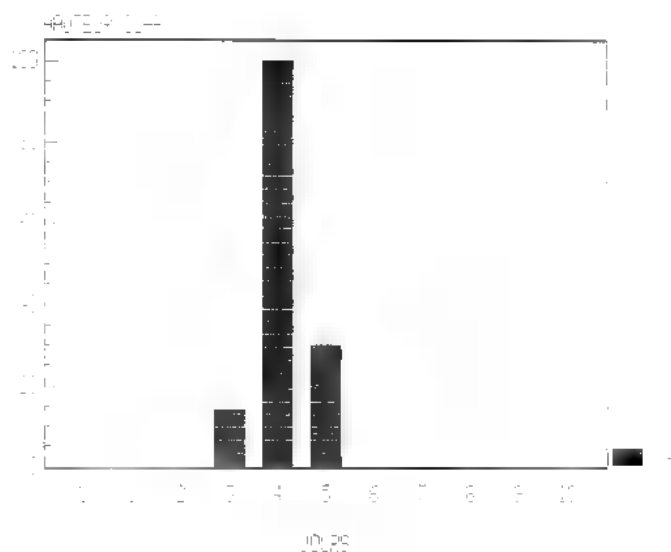


Fig. 3. - Cinétique de production du composé **4** chez *S. macrospora*.

Fig. 3. - Kinetic of production of the compound **4** in *S. macrospora*.

Bien que les premières étapes de la voie de formation du DHN puissent être communes à de nombreux champignons, en particulier Ascomycètes, nous avons démontré, par ce travail, qu'il existait au moins deux types de dimérisation possibles de ce composé à l'état naturel. Cependant, une question reste posée: ces substances coexistent-elles chez le même champignon, contribuant à la formation de la même mélanine? Il faut remarquer que chez les deux champignons que nous avons étudiés, nous n'avons pas mis en évidence le deuxième dimère lorsque le premier était présent.

Il faut également noter que le composé **2** est un produit d'accumulation dans le carpophore mûr de *D. concentrica*, alors que le dimère **4** n'a qu'une existence fugace (voir Fig. 3), corrélée à la mise en place des structures reproductrices, et n'est en aucun cas présent dans les ascospores chez *S. macrospora*.

Les dimères **2** et **4** sont tous deux très facilement oxydables à l'air. Les pigments sombres obtenus sont cependant différents: brun rouge avec **2**, gris vert avec **4**. Ces nuances de colorations mélaniques, que l'on retrouve d'ailleurs *in vivo*, pourraient être un argument en faveur de l'existence de mélanines spécifiques. Toutes questions restent cependant posées en ce qui concerne les modalités des polymérisations ultérieures.

BIBLIOGRAPHIE

- ALLPORT D.C. and BU'LOCK J.D., 1958 - The pigmentation and cell wall material of *Daldinia* sp. *J. Chem. Soc.* 4090.
- ALLPORT D.C. and BU'LOCK J.D., 1960 - Biosynthetic pathways in *Daldinia concentrica*. *J. Chem. Soc.* 654-662.
- BELL A.A. and WHEELER M.H., 1986 - Biosynthesis and functions of fungal melanins. *Annual Rev. Phytopathol.* 24: 411-451.
- BOUILLANT M.L., FAVRE-BONVIN N., SALIN N. and BERNILLON J., 1988 - Sordariol and related compounds, hexaketides in the fungus *S. macrospora*. *Phytochemistry* 27: 1517-1519.
- BOUILLANT M.L., GROUT P., BERNILLON J., FAVRE-BONVIN J., SALIN N. et ARPIN N., 1989 - Biosynthèse de la mélanine chez *Sordaria macrospora*. *Cryptogamie, Mycol.* 10: 257-264.
- BU'LOCK J.D. and ALLPORT D.C., 1957 - A new type of melanin and the biogenesis of a Perylene derivative. *Proc. Chem. Soc.* 264.
- EDWARDS R.L. and LOCKETT H.J., 1976 - Constituents of Higher Fungi XVI. Bulgarhodin and Bulgarcin. Novel Benzofluoranthrenquinones from the Fungus *Bulgaria inquinans* (Fries). *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*: 2149.
- GUNAWAN S., 1982 - Untersuchungen an Inhaltsstoffen von Ascomyceten und Sesquiterpenen aus Basidiomyceten. Dissertation, Universität de Bonn.
- WHALLEY A.J.S. and WHALLEY M.A., 1977 - Stromal Pigments and Taxonomy of *Hypoxyton*. *Mycopathologia* 61: 99.
- WHEELER M.H. and BELL A.A., 1988 - Melanins and their importance in pathogenic fungi. In: Mc GINNIS, *Current Topics in Medical Mycology*. Berlin, Heidelberg & NY, Springer Verlag.

**RÉPERTOIRE DES DONNÉES UTILES POUR EFFECTUER
LES TESTS D'INTERCOMPATIBILITÉ
CHEZ LES BASIDIOMYCÈTES
VI. - APHYLLOPHORALES NON PORÉES
(Premier supplément)**

par J. BOIDIN

17 rue Duguesclin, 69006 Lyon, France.

RÉSUMÉ - Les caractères du cycle et des mycéliums d'une centaine d'espèces sont résumés. Les 360 espèces de Corticiés s.l. au cycle aujourd'hui suffisamment connu sont réparties en fonction de leur thallie, le cas des "homothalles présumées" discuté, et 5 sous-groupes distingués. De nombreux genres ont un comportement homogène; certains artificiellement hétérogènes seraient à corriger (p. ex. *Phlebia*), mais d'autres montrent, à partir d'espèces tétrapolaires bouclées, le sens de l'évolution vers la perte partielle puis totale des boucles, puis vers la cénocytie. Le stade ultime (surévolué?) est celui des espèces à boucles verticillées, dont certaines ont repris goût à une certaine hétérocaryose.

ABSTRACT - This article regroups, in the light of new data, around 100 species. Table 1 gives, for the 360 species of well known Corticiaceae (s.l.), the distribution between bi- or tetra-polar heterothallic, parthenogenetic and the numerous "presumed homothallic" species. The latter contains 105 species and can be subdivided via clamp connections and nuclear behaviour into 5 subgroups (Tabl. 2). The two subgroups with multinuclear cells and infrequent clamps (46 species) contain the heterothallic species according to Ainsworth and may be considered as possibly heterothallic, even though some of them are already known to have a non-outcrossing strategy. The subgroup with a monosporous, clamped and binucleate mycelium (15 species) can be said to be truly homothallic. A problem arises with where the 44 totally clampless species are to be placed. Are those with binuclear cells truly homothallic and are the species with exclusively and predominantly multinucleate cells able to exchange nuclei and thus able to behave as a heterothallic species?

We then present the distribution of the different behaviours in the genera accepted by morphologist systematicians. The parthenogenetic clampless species cannot be excluded from clamped genera. Similarly, the true homothallic species with constant clamps in their aerial mycelia cannot be separated, on a generic basis, from heterothallic species, morphologically identical (often bipolar), which they seem to derive from.

Many genera do have a uniform behaviour; others do not (*Lopharia* f.i.), or require some exclusions (*Phlebia*). Many genera are however, showing parallel evolution towards a partial and later total loss of clamps, starting with no nuclear disorder (*Scytinostroma*, *Pentophora*...). For some genera, the loss of clamps may be linked with an increasingly pronounced nuclear disorder (*Aleurodiscus*, *Vararia*, *Acanthophysium*...). The worst nuclear disorder is associated with the presence of infrequent opposite or verticillate clamps. This seems to be a more advanced state of mycelial evolution.

It is worth pointing out (as Ainsworth et al. showed) that this multinuclear state makes possible or eases nuclear exchange between monospermous mycelia. This heterocaryosis makes future adaptations to environmental changes possible. These would not be possible with uniparental reproduction.

Cette note fait suite aux cinq articles parus dans cette même revue: I- Introduction (J. Boidin & P. Lanquetin, 5: 33-45, 1984); II- Phragmobasidiomycètes saprophytes (5: 47-50, 1984); III- Aphyllophorales non porées (*) (5: 193-245, 1984); IV- Gastéromycètes (A. Capellano, 6: 65-68, 1985); V- Agaricales sensu lato (D. Lamoure, 10: 41-80, 1989).

Dans des articles anciens (Boidin, 1956; Boidin & Des Pomeys, 1961; Boidin, 1964; Boidin & Lanquetin, 1965) nous faisons quelques remarques sur la répartition des caractères homothalles, bi- ou tétra-polaires dans les genres de Corticiés s.l. Avec les données de l'Index III complétées aujourd'hui, celles-ci peuvent être actualisées.

Hétérothalles		%
tétrapolaires	185	51,4
bipolaires	65	18,0
Parthénogénétiques	5	1,4
Homothalles présumées	105	29,1

Tableau 1: Répartition des 360 espèces au cycle suffisamment connu (Typhulées et Dacrymycétales exclues).

Table 1: Distribution of the 360 species of well known Corticiaceae (without Typhulales and Dacrymycetales).

Sur 360 espèces pour lesquelles les données sont suffisamment précises, 185 sont hétérothalles tétrapolaires, 65 bipolaires, 5 parthénogénétiques haploïdes, et 105 sont homothalles ou homothalles présumées (Tabl. 1). Parmi les homothalles présumées, il faut distinguer les homothalles vraies au

(*) Errata de la note III: mettre va au lieu de v, colonne 6 à *aurea* (*Mycoacia*) p. 197; à *brevispora* (*Phlebia*) p. 198; à *incarnata* (*Merulius*, ou mieux *Phlebia*) p. 210. Colonne "références", remplacer 133 par 134 (*brinkmanii*), 141 par 140 (*citrinum*); 142 par 141 (*comedens* et *lacrymans*); 143 par 142 (*berkeleyi*), 144 par 143 (*radicata*), 146 par 145 (*granulosa*, *raduloides* et *sulcata*), 154 par 155 (*brevispora*) et 140 par 146 (*gyrans*).

mycélium monosperme aérien bouclé et binucléé, les homothalles présumées au mycélium monosperme pluri- ou multinucléé aux boucles inconstantes, chez la plupart d'entr'eux opposées ou verticillées sur les hyphes les plus larges, enfin ceux sans aucune boucle (Tabl. 2).

Mycélium monosperme aérien	Boucles		%	Thallie
binucléé	constantes	15	4,1	homothalles vraies
	absentes	27	7,5	?
multinucléé	rare	9	2,5	hétérothalles possibles
	parfois opposées ou verticillées	37	10,3	
	absentes	17	4,7	?

Tableau 2: Espèces anciennement présumées homothalles.
Table 2: Formerly presumed homothallic species.

Si plusieurs auteurs (voir l'article récapitulatif d'Ainsworth, 1987; Korhonen & Kaupila, "1987" 1988) ont montré que chez quelques espèces "homothalles présumées" cénocytiques à boucles opposées-verticillées (certains *Stereum*, *Coniophora*, *Phlebiopsis*...) une hétérocaryose était possible (ou obligatoire?) avant fructification, il faut donc considérer une partie sinon toutes les 46 espèces aux mycéliums monospermes et polyspermes à boucles rares, cytologiquement indifférenciables, comme des hétérothalles présumées. Il nous semble cependant dangereux de les appeler aujourd'hui bipolaires (ou monofactorielles), et il serait préférable de créer pour elles un terme nouveau. Ainsworth (loc. cit.) révèle d'ailleurs des comportements opposés qu'il nomme "non outcrossing strategy" et "outcrossing strategy". Restent les homothalles présumées totalement dépourvues de boucles, qui sont pour l'essentiel des *Hymenochaete*, des *Vararia*... On peut les partager en 2 sous-ensembles: 1) celui des espèces au mycélium binucléé (peut-on dire dicaryotique?), avec de possibles variations (quelques articles ou files d'articles à 1 ou à 3 ou 4 noyaux), qui sont les plus nombreuses (27) et qui sont vraisemblablement des homothalles vraies: 2) celui des espèces à mycélium pluri- ou multi-nucléé, au nombre de 18 qui sont, peut-être, des hétérocaryotiques potentielles.

Ces précisions données, il nous paraît intéressant de voir comment se répartissent ces divers comportements à l'intérieur des genres actuellement acceptés par les Systématiciens morphologistes.

Deux remarques préliminaires: 1) les 5 espèces parthénogénétiques haploïdes sont évidemment dépourvues de boucles, ce sont: *Epithela efibulata*, *Hyphodontia efibulata*, *Peniophora laurentii*, *Vararia aurantiaca* et *mediospora* ssp. *makokouensis*. Cette absence de boucles, qui s'explique par

un cycle raccourci, on pourrait dire néoténique, n'a aucune signification systématique et ne doit pas permettre l'exclusion de ces espèces de genres où toutes les autres espèces (genres *Hyphodontia* et *Epithele*), où la très grande majorité (genre *Peniophora*), sont à boucles constantes. Nous avons déjà fait remarquer (Boidin et al., 1986) que le *Vararia aurantiaca* était plus étroitement apparenté au *V. rosulenta* bouclé qu'à tout autre *Vararia* sans boucles. Si les cas connus ne sont qu'au nombre de 5, il est vraisemblable que d'autres sont à attendre comme celui d' *Amylocorticium rhodoleucum*. 2) les espèces homothalles à mycélium dicaryotique bouclé dérivent très vraisemblablement d'ancêtres hétérothalles (souvent bipolaires) parfois si proches morphologiquement que l'on n'a pas osé nommer ces types homothalles, bien qu'ils soient isolés génétiquement: par exemple chez *Hyphoderma praetermissum*, *H. setigerum*. Dans d'autres cas, ce sont des espèces reconnues: *Corticium roseum* et *quercinoides*, *Phlebia albida*, *Mycoacia aurea* (les autres espèces de ces 3 genres sont bipolaires), mais encore *Epithele nikau*, *Hypochnicium albostramineum*, *Vesiculomyces leucoxanthus*...

Ces deux remarques faites, bien des genres ont un comportement parfaitement homogène. Sont tétrapolaires (entre parenthèses, le nombre d'espèces testées): *Aleurocystidiellum* (2), *Amylocorticium* (2), *Amylostereum* (4), *Aphanobasidium* (2), *Cerocorticium* (3), *Cylindrobasidium* (2), *Cymatoderma* (4), *Cytidia* (3), *Dendrocorticium* (3) contrairement aux *Corticium* s. str. anciennement réunis dans le genre *Laeticorticium*, *Dichostereum* (9), *Fibrichium* (2), *Herichium* (5), *Hyphodontia* (14), *Hypochnicium* inclus *Granulobasidium* (6), *Podosecypha* (8), *Pteridomyces* (2), *Serpula* (2), *Steccherinum* (10), *Vuilleminia* (5)... De petits genres, parfois monospécifiques, sont à placer ici: *Auriscalpium*, *Bulbillomyces*, *Chaetoporellus*, *Chondrostereum*, *Creolophus*, *Dacryobolus*, *Dentocorticium*, *Gloiodon*, *Hypochniciellum*, *Irpicodon*, *Laxitextum*, *Mendodontia*, *Plicatura* et *Plicaturopsis*, *Pseudomerulius*, *Steccherichium*, *Veluticeps*.

Sont bipolaires: *Corticium* s. str. à spores roses (6), *Crustoderma* (2), *Galzinia* (2), *Gloeodontia* (2), *Hyphoderma* (11), *Mycoacia* (3), les vrais *Phlebia* (12), *Punctularia* (3), *Radulodon* (2). Il faut encore citer des genres monospécifiques ou des genres dont une seule espèce a été étudiée, ces espèces sont: *Athelia decipiens*, *Dentipellis dissita*, *Fibrodonia gossypina*, *Laurilia sulcata*, *Pulcherricium caeruleum*, *Resinicium bicolor*, *Sarcodontia setosa*, *Sparassis crispa*.

Sont homothalles bouclés: *Acanthobasidium* (2).

Sont multinucléés à boucles opposées ou verticillées sur les plus gros axes: *Climacodon* (1), *Byssomerulius* (1), *Coniophora* (3), *Meruliopsis* (3), *Phanerochaete* (inclus *Scopuloides*) (10), *Phlebiopsis* (1), *Stereum* (13), auxquels il faut ajouter 3 *Gloeocystidiellum* et deux espèces dont il sera question plus loin: *Aleurodiscus gabonicus* et *Vararia insolita*.

En dehors des cas d'homothallie vraie et de parthénogénèse évoqués plus haut, et qui ne sont pas des signes d'hétérogénéité, on rencontre des genres hétérogènes. Deux raisons contradictoires peuvent expliquer l'hétérogénéité d'un genre: 1) la morphologie a amené à constituer des ensembles discutables; 2) une évolution à partir d'ancêtres hétérothalles binucléés et bouclés a amené, dans un même phylum, à l'apparition d'espèces bipolaires, puis homothalles, ou à la perte partielle puis totale des boucles, parfois associée à un dévergondage nucléaire de plus en plus durable au cours du cycle.

Genres hétérogènes:

Lopharia: on peut citer ce genre, caractérisé avant tout par le dimitisme et les métuloïdes mais que nous avons (*Bull. Soc. Linn. Lyon* 28: 205-222, 1959) découpé en 3 fractions: les espèces typiques, bouclées et tétrapolaires (*L. cinerascens*, *mirabilis*), les espèces sans boucles (dont *L. crassa*, que Burdsall (1985) transfère, pour des raisons puisées dans les caractères culturels, mais non explicités, dans le genre *Phanerochaete*), une espèce bouclée mais astatocénocytique et bipolaire (*L. spadicea*).

Phlebia: ce genre a été, nous semble-t-il, ouvert trop largement à des espèces tétrapolaires comme *Phl. segregata*, *chrysocrea*; les vrais *Phlebia* associent à leur consistance céracée, à leur petites spores gonflant beaucoup avec multiplication des noyaux à la germination, à leur astatocénocytie, la bipolarité, tout comme *Merulius tremellosus* et *Pirex concentricus* comme le font remarquer Nakasone & Burdsall (1984) et Kopp & Nakasone (1985) qui proposent leur transfert dans le genre *Phlebia**.

Genres où l'on peut retenir l'hypothèse évolutive:

Sistotrema: ce genre a révélé très tôt à Biggs (1937) des comportements soit tétrapolaires, soit bipolaires, soit homothalles vrais, et ceci a été confirmé par les études ultérieures: *S. coronilla*, *biggsiae*, *coroniferum*, *farinaceum* sont tétrapolaires, *S. hamatum*, *oblongisporum* sont bipolaires, et *S. brinkmannii* subsp. 1 de Lemke est homothalle.

Peniophora: si 36 espèces sur 40 étudiées se sont montrées tétrapolaires et si on laisse de côté le cas vu plus haut du *P. laurentii* parthénogénétique, il faut remarquer que *P.* (subgen. *Diportella*) *trigonosperma* est hétérothalle sans boucles, que *P.* (subgen. *Peniophora*) *reidii* est homothalle sans boucles mais encore dicaryotique, alors que *P.* (*Gloeopeniophora*) *erikssonii* est homothalle présumé, sans boucles mais plurinucléé. On constate donc, dans

(*) Certains *Phlebia* notés He (hétérocytiques) et b (boucles présentes sans précisions) sont vraisemblablement astatocénocytiques à boucles variables en fonction des conditions d'aération, et donc à leur place dans ce genre, ce sont *Phlebia tristis* et *Phl. nitidula*, ce dernier dit à boucles inconstantes. Par contre, si le comportement N (normal) de *Phlebia bresadolae* est confirmé, il doit en être éliminé.

3 sous-genres, une tendance à la perte des boucles (elle est déjà partielle chez *P.* (subgen. *Peniophora*) *limitata* et *piceae*) qui peut aller de pair avec une perte de l'hétérothallie puis avec l'installation de la plurinucléation qui débute toujours dans les spores (celles de *P. erikssonii*, mais aussi de *P. aurantiaca* sont binucléées).

Acanthophysium: ce genre, riche d'environ 18 espèces dont 6 sans boucles, est encore peu connu en culture, mais révèle déjà une certaine hétérogénéité: les espèces bouclées sont bipolaires (*A. livido-caeruleum*, *cerussatum*), ou tétrapolaires (*A. buxicola*)*; les espèces sans boucles sont holocénocytiques (*A. apricans*, *bisporum*). On peut supposer qu' *A. buxicola*, dépourvu d'acanthophyses et tétrapolaire serait à retirer; mais l'étroite ressemblance d' *A. bisporum* avec *A. cerussatum* et *thoeni* nous incite à croire que la perte des boucles a rapidement mené à l'anarchie nucléaire comme pour le *Peniophora erikssonii* cité plus haut.

Scytinostroma: ce genre bien caractérisé par ses fibres dextrinoïdes et ses sulfocystides nous montre une diversité de comportements qui va des espèces bouclées tétrapolaires aux espèces tétrapolaires dépourvues de boucles, et enfin aux espèces homothalles sans boucles mais encore dicaryotiques. Dans ce genre la perte totale des boucles est fréquente (plus de 60% des espèces) mais n'a pas encore provoqué de dérèglement nucléaire.

Aleurodiscus s. str., c'est-à-dire limité aux espèces à spores amyloïdes spinuleuses roses en masse et à gloécystides SA-: il ne possède qu'une espèce connue comme tétrapolaire bouclée (*A. atlanticus*), les autres sont soit homothalles bouclées et dicaryotiques (*A. mirabilis*), soit homothalles plurinucléées à boucles inconstantes (*A. wakefieldiae*), soit homothalles présumées, holocénocytiques et sans boucles (*A. aurantius*, *oakesii*), ou même holocénocytiques à boucles verticillées (*A. gabonicus*), mais ce dernier est marginal avec ses spores ornées mais non spinuleuses (sont-elles rose-orangé en masse?).

Vararia: en plus des deux cas de parthénogenèse déjà discutés, ce genre montre des comportements diversifiés. 13 espèces sont tétrapolaires à boucles constantes, une est tétrapolaire à mycélium dicaryotique à boucles inconstantes (*V. abortiphysa*), une hétérothalle sans boucles (*V. trinidadensis*), deux sont homothalles présumées à boucles rares et articles plurinucléés (*V. breviphysa* et *V. pirispora*), 10 sont sans boucles, apparemment homothalles, et montrent une évolution depuis le mycélium dicaryotique (*V. mediospora*), les mycéliums aux articles à 1-2-3 noyaux (*V. gallica* et *V. tropica*), aux articles à 2-3 et jusqu'à 10 noyaux (*V. ochroleuca*, *ambigua*, *cremea*,

(*) *Acanthophysium canadense* a été dit amphithalle bipolaire par Skolko (1944) puis considéré comme tétrapolaire par Ginns (1974); voir Index III. Il faut placer dans ce genre l' *Aleurodiscus mesaverdensis* J. Page Lindsey (*Mycotaxon* 30: 433, 1987) comme *Acanthophysium mesaverdense* (P. Lindsey) nov. comb., espèce bouclée qui devrait donc être bipolaire (?).

minidichophysa), ceux nettement plurinucléés (*V. gomezii*) ou multinucléés (*V. rugosispora*), et un homothalle présumé multinucléé à boucles verticillées (*V. insolita*) que l'on pourrait considérer comme le plus évolué, les boucles verticillées étant toujours associées au plus large dévergondage nucléaire. A noter encore le cas du *V. cinnamomea* holocénocytique sans boucles mais dont les appariements d'haplontes permettraient de distinguer 4 pôles; ce serait le seul cas connu où l'aspect des confrontations permettrait de distinguer non pas 2 types comme dans les expériences relatées par Ainsworth (1987) ou Korhonen & Kauppila ("1987" 1988) qui parlent de bipolarité, mais 4 types de mycéliums monospermes; pour les raisons données plus haut, nous ne parlerons pas de tétrapolarité.

Hymenochaete: ce genre bien connu pour être dépourvu de boucles, est fait en grande partie d'espèces aux mycéliums monospermes âgés binucléés (avec irrégularités); sont cependant multinucléées quelques espèces comme *H. sallei*, *tabacina*. Toutes étaient considérées comme des homothalles possibles. A noter cependant que *H. boidinii* vient de révéler (Léger & Lanquetin, 1989) le premier cas d'hétérothallie bipolaire.

Pour terminer, il faut signaler que nos connaissances sont encore très incomplètes. Bien des genres n'ont pas encore fait l'objet de croisements de cultures monospermes bien que, les ensemencements polyspermes le prouvent souvent, la culture pure soit possible sur milieux habituels. Citons *Amphinema*, *Athelia* (une seule espèce testée), *Botryobasidium*, *Brevicellicium*, *Cristinia*, *Dendrothele*, *Fibulomyces*, *Kavinia*, *Lindtneria*, *Leucogyrophana*, *Luellia*, *Phlebiella*, *Piloderma*, *Repetobasidium*, *Sistotremella*, *Subulicystidium*, *Trechispora*, *Tubulicium*, *Xenasma*...

o

o o

Pour la signification des signes, nous renvoyons le lecteur à la partie I ou aux résumés situés en tête de la partie III (p. 193-194) ou de la partie V (p. 41-43).

ESPECES	SPECIES	THALITE	noyaux			comportement nucléaire	boucles	vitesse de croissance	arthrospores ou conidies	REFERENCES
			basidiospore	monospore	polyspore					
		1	2	3	4	5	6	7	8	
abietis(Weir), <i>Mericium</i>		hIV					b	7		19
adnatum Hallenb., <i>Sistotrema</i>		h	1	u	d	N	b			22
adusta(Lév.), <i>Hymenochaete</i>		H	1	d*	d*	(N)	a	3		37
africano-galactinum Boid. & Lanq., <i>Scytinostroma</i>		hIV	1	u	d	N	c	2-3		12
alboglaucum(Bourd. & Galz.) <i>Coronicium</i>		h	1	u*	d	N*	a	3		25
albostramineum(Bres.), <i>Hypoch-nicium</i> , voir <i>eichleri</i>										
album(Atk. & Burt), <i>Cylindrobasidium</i> , voir <i>torrendii</i>										
allantosporum Oberw., <i>Xenamatella</i> , <i>Aphanobasidium</i>		hIV		u	d	N	b	7		26
aluta Lanq., <i>Scytinostroma</i> = <i>portentosum</i> p.p.		hIV	2	u*	d*	SN*	a	7		12
americanum Ginns., <i>Mericium</i>		hIV					b	4-7		19
aspera-breviseta, <i>Hyphodontia</i> aggr. gr. I à IV		h					b	4-7		21
athelioides Hall., <i>Sistotrema</i>		h	1	u	d	N	b			22
berteroi Pat., <i>Hymenochaete</i>		H	1	d*	d*	(N)	a	5-6		36-35
biggsiae Hall., <i>Sistotrema</i> = <i>coronilla</i> IIIb Biggs		hIV	1	u	d	N	b			22
binucleosporum Hall., <i>Sistotrema</i>			2	p						22
bisporum Boid. & Lanq., <i>Acanthophysium</i>		H	2*	p	p	HC	a	6		14
boidinii Léger & Lanq., <i>Hymenochaete</i>		hII	1	u	d*	N*	a	5-6		36
borbonica Léger & Lanq., <i>Hymenochaete</i>		H	1	d*	d*	(N)	a	6-7		35-36
borealis Erikss., <i>Tubulicrinis</i>		h		u	d	N	b	7		26
bourdotii Saliba & David, <i>Steccherinum</i> aggr.		hIV	1	u	d	N	c	4-5		41-42

ESPECES	SPECIES	1	2	3	4	5	6	7	8	REFERENCES
bresadolae Parm.; Phlebia		h	1	u	d	N	c	4		25
buxicola Boid. & Lanq., Acanthophysium		hIV	2	u	d	SN	c	5		14
callichroa Boid. & al., Va- raria		hIV	1	u	d	N	c	4		9
calothrix (Pat.), Tubulicri- nis		h		u	d	N	b	7		26
caudisporum Boid., Lanq. & Gilles, Scytinostroma		H?	1	u/d*	d	(N)	a	4-6		12
cervina Berk. & Curt. Hyme- nochaete					d*		a	7		31
cervinoidea Léger & Lanq., Hymenochaete		H	1	d*	d*	(N)	a	7		35-36
cinnamomea (Pers.), Hymeno- chaete					m	HC	a	5		31
cinnamomea Boid. & Lanq., Vararia		IV?	2	m	m	HC	a	3		11
concentrica (Cooke & Ell.), Pirex		h				He	b	2		30
Phlebia		hII				As	va	2		32
coronilla (Höhn. & Litsch.), Sistotrema		hIV	1	u	d	N	b			22
coryli Boid. & al., Vuille- minia		hIV	2	p	d	He	c	7		13
crassa (Lév.), Lopharia, Phanerochaete							r	1		18
cretacea (Bourd. & Galz.), Phlebia		h	1		d		c	7		27
crispulum Boid. & al., Scy- tinostroma		H		u/d	d	(N)	a	5-6		7-12
decidens Boid. & al., Scy- tinostroma			1		d*		a	3-5		7-12
deciplens (Höhn. & Litsch.), Athelia		hII				N	i			28
deflectens (Karst.), Phlebia		H?	1	m	m	HC	i	2(6)		25
dissita (Berk. & Curt.), Dentipellis		hII					c	5		20
eichleri (Bres.), Hypochni- cium, (sensu Hallenb. 1983 = albostramineum)		h					c	4		23
expallens (Bres.), Laeti- corticium		h				N	c	7		24
farinaceum Hallenb., Sisto- trema		hIV		u	d	N	b			22
farinosus (Bres.), Bulbillo- myces		h					c			28
firma Erikss. & Hjortst., Phlebia			1		d*		c			25
flavido-albida (Cooke), Pha- nerochaete							v	1		18

ESPECES	SPECIES	1	2	3	4	5	6	7	8	REFERENCES
gabonicus Boid.& al., Aleurodiscus	H	1	m	m	HC	v	4-5			14
gigantea(Fr.), Phlebiopsis	hII									33
gracillimus(Rog.& Jacks.), Tubulicrinis aggr.			u	d	N		6-7			26
intextum Boid.& al., Scytinostroma	H	1	u/d*	d*	(N)	a	3			7-12
leonina Berk.& Curt., Hymenochaete				d*		a	7			31
lindtneri(Pilat), Phlebia	hII	1	m	m	As	va	2			25
longicystidia(Litsch.), Phlebia	h	1	m	m	As	va	5			25
luteo-badia(Fr.), Hymenochaete	H	1	d*	d*	(N)	m	7			31-36-Index III
malaysiana Boid.& Lanq., Vararia	hIV	1	u	d	N	c	4			11
mediterraneense Boid.& Lanq. Scytinostroma	H	1	d*	d	(N)	a	4			12
medius(Bourd.& Galz.), Tubulicrinis	h		u	d	N		7			26
meridiochraceum Saliba & David, Steccherinum	hIV	1	u	d	N	c	5-6			41-42
microspermum Boid.& Lanq., Scytinostroma	hIV	1	u	d	N	c	4			12
minuscule Cunn., Hymenochaete	H		d*	d*		a				36
mucida (Bourd.& Galz.), Cristinia	H?									21
neogalactinum Boid.& Lanq. Scytinostroma	hIV	1	u	d	N	c	2-3			12
nitidula(Karst.), Phlebia	hII	1	p*	d*	He*	i	6			25
norvegicum (Eriks.& Ryv.), Acanthobasidium	H	2*	u/d	d	SN	c	6			14
oblongisporum Christ.& Hauersl., Sistotrema	hII	1	u	d	N	b				22
ochraceo-album(Bourd.& Galz.), Confertobasidium	h				m	c				24
ochroleucum(Bres.& Torr.), Scytinostroma	h	2	u	d	SN	a	7			12
olivaceo-album (Bourd. & Galz.), Confertobasidium	h				N	c	6			24
orientale Boid.& Lanq., Dichostereum	hIV	2	p	d	He	c	3-4	col		8
pallida Hauersl., Christiansenia	h		u	d				co		40
parmastoi Boid.& Lanq. Vararia	h	1	u	d	N	c	4-5			11
phragmitis Boid.& al. Acanthobasidium	m	1*	u	d	(N)	c	5-6			14
pini-canadense(Schw.), Cystostereum		1	u*	d	N*	c	4			17
pinnatifida Burt, Hymenochaete	H		d*	d*		a	7			36
pirispora Boid.& al., Vararia	H	2	p	p	HC	r	4-5			31
										8

TESTS D'INTERCOMPATIBILITÉ CHEZ LES BASIDIOMYCETES 185

ESPECES	SPECIES	1	2	3	4	5	6	7	8	REFERENCES
polonense(Bres.);										
Hypochnicium		h				N	c	7		24
porulosum Hallenb.										
Sistotrema		h		p	d	He	b			22
protrusum(Burt),Scytinos-										
troma, ssp.protrusum		hIV					c			39
ssp.septentrionale		hIV					c			39
= eurasiatiko-galactinum										
Boid.& Lanq.		hIV	1	u	d	N	c	2-3		12
pseudochraceum Saliba &										
David, Steccherinum		hIV	1	u	d	N	c	5-6		41-42
pseudo-praestans Boid.& al.										
Scytinostroma		hIV	1	u	d	N	c	6		9
quercinum Erikss.& Ryv.										
Laeticorticium		H	2	p	p	HC	i	4		25
renisporum Boid.& al.										
Scytinostroma		h	2	u	d	SN	a	4-6		12
roseus Jülich;										
Leptosporomyces		hIV	1	u	d	N	c			27
rosulenta Boid.& al.										
Vararia		h	1	u	d	N	c			15
sallei Berk.& Curt.										
Hymenochaete					p		a	3		31
segregata(Bourd.& Galz.),										
Phlebia		hIV	1	u	d	N				27
separabilis Léger,										
Hymenochaete		H	1	d*	d*	(N)	a	3		36-35
serpens(fr.),										
Ceraceomerulius; aggr.										
gr.1		hIV					b			28
gr.2		hII					b			28
gr.3		hIV					b			28
sigmatospora Boid.& al.										
Vararia		H	1	d*	d*	(N)	a	4		■
sphaericosporum Boid.& al.										
Botryobasidium		H	1	p	m	HC	a	2		5
strangulatus Larss.&										
Hjortst.,Tubulicrinis										
aggr.		h		u	d	N		7		26
subceraceum(Hallenb.)										
Fibricium		hIV		u	d	N	c	4		29
subulatus(Bourd.& Galz.),										
Tubulicrinis aggr.		h		u	d	N		7		26
suecica Litsch.,										
Peniophora		hIV	1	u	d	N	c	3		34
suecicum (Litsch.)										
Sistotremastrum		hII				N*	c	7		24
sulphureo-isabellinum										
(Litsch.),Cerocorticium,										
Flavophlebia		h	1	u	d*	N	b	7		25
thoenii Boid.& al.										
Acanthophysium		h	2	p	d	He	(c)	7		14
torrendii(Bres.); Cyliandro-										
basidium;										
= albulum (Atk.& Burt)		hIV					c	2-3		18

ESPECES	SPECIES	1	2	3	4	5	6	7	8	REFERENCES
trinidadensis Welden, Vararia		h	1	■	d	■	a	5		11
tristis(Litsch.& Lund.), Phlebia		hII	2	p	d	He	b			27
tulasnelloidea(Höhn.& Litsch.) Phlebiella,aggr.		h		u	d			7		26

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - AINSWORTH A.M., 1987 - Occurrence and interactions of out-crossing and non outcrossing populations in *Stereum*, *Phanerochaete* and *Coniophora*. In: RAYNER A.D.M., BRASIER C.M. & MOORE D.D., *Evolutionary biology of the Fungi*. Univ. Cambridge Press, 285-299.
- 2 - BIGGS R., 1937 - The species concept in *Corticium coronilla*. *Mycologia* 29: 686-706.
- 3 - BOLDIN J., 1956 - Polarité dite "sexuelle" et systématique chez les Basidiomycètes Théléphoracées. *Rev. Mycol. (Paris)* 21: 121-131.
- 4 - BOLDIN J., 1964 - Valeur des caractères cultureux et cytologiques pour la taxinomie des *Thelephoraceae* résupinés et étalés-réfléchis (Basidiomycètes). *Bull. Soc. Bot. France* 111: 309-315.
- 5 - BOLDIN J., CANDOUSSAU F. et LANQUETIN P., 1988 - *Botryobasidium sphaeriosporum* nov. sp. (Basidiomycotina). *Mycol. Helvet.* 3: 233-237.
- 6 - BOLDIN J. et DES POMEYS M., 1961 - Hétérobasidiomycètes saprophytes et Homobasidiomycètes résupinés IX - De l'utilisation des critères d'interfertilité et de polarité pour la reconnaissance objective des limites spécifiques et des affinités. *Bull. Soc. Mycol. France* 77: 237-261.
- 7 - BOLDIN J., GILLES G. et LANQUETIN P., 1987 - Basidiomycètes Aphyllophorales de l'île de la Réunion VIII - le genre *Scytinostroma* Donk. *Bull. Soc. Mycol. France* 103: 111-118.
- 8 - BOLDIN J., GILLES G. et LANQUETIN P., 1987 - Id. IX. Les genres *Dichostereum* Pilat et *Vararia* Karst. *Ibid.* 103: 119-135.
- 9 - BOLDIN J., GILLES G. et LANQUETIN P., 1988 - Id. XI Compléments aux genres traités antérieurement (2ème partie). *Ibid.* 104: 179-190.
- 10 - BOLDIN J., LANQUETIN P., 1965 - Hétérobasidiomycètes saprophytes et Homobasidiomycètes résupinés. X- Nouvelles données sur la polarité dite "sexuelle". *Rev. Mycol. (Paris)* 30: 13-16.
- 11 - BOLDIN J. et LANQUETIN P., 1984 - Compléments au genre *Vararia* P. Karst. (Basidiomycètes). *Persoonia* 12: 243-262.
- 12 - BOLDIN J. et LANQUETIN P., 1987 - Le genre *Scytinostroma* Donk (Basidiomycètes, *Lachnocladiaceae*). *Biblioth. Mycol.* 114, 130p.
- 13 - BOLDIN J., LANQUETIN P. et GILLES G., 1989 - Une nouvelle espèce de *Vuilleminia*: *V. coryli* (Basidiomycotina). *Bull. Soc. Mycol. France* 105: 163-168.
- 14 - BOLDIN J., LANQUETIN P., CANDOUSSAU F., GILLES G. et HUQUENEY R., "1985"1986 - Contribution à la connaissance des *Aleurodiscoideae* à spores amyloïdes (Basidiomycètes, *Corticaceae*). *Bull. Soc. Mycol. France* 101: 333-367.

- 15 - BOLDIN J., LANQUETIN P. et MACKEE H.S., 1986 - *Vararia rosulenta* (Basidiomycète *Lachnocladiaceae*), nouvelle espèce néo-calédonienne. *Windahlia* 16: 81-84.
- 16 - BURDSALL H.H. Jr., 1985 - A Contribution to the Taxonomy of the Genus *Phanerochaete* (*Corticiaceae*, Aphyllophorales). *Mycologia Mem.* 10, 165p.
- 17 - CHAMURIS G.P., 1986 - The *Cystostereum pini-canadensis* complex in North America. *Mycologia* 78: 380-390.
- 18 - ESLYN W.E. and NAKASONE K.K., 1984 - Fifteen little-known wood-products inhabiting Hymenomycetes. *Material und Organismen* 19: 201-240.
- 19 - GINNS J., 1985 - *Hericum* in North America: cultural characteristics and mating behavior. *Canad. J. Bot.* 63: 1551-1563.
- 20 - GINNS J., 1986 - The genus *Dentipellis* (*Hericiaceae*). *Windahlia* 16: 35-45.
- 21 - HALLENBERG N., 1984 - Compatibility between species of *Corticiaceae* s.l. (Basidiomycetes) from Europe and North America. *Mycotaxon* 21: 335-388.
- 22 - HALLENBERG N., 1984 - A taxonomic analysis of the *Sistotrema brinkmanii* complex (*Corticiaceae*, Basidiomycetes). *Mycotaxon* 21: 389-411.
- 23 - HALLENBERG N., 1985 - On the *Hypochnicium eichleri* complex (Basidiomycetes). *Mycotaxon* 24: 431-436.
- 24 - HALLENBERG N., 1985 - Compatibility between species of *Corticiaceae* s.l. (Basidiomycetes) from Europe and Canada II. *Mycotaxon* 24: 437-443.
- 25 - HALLENBERG N., 1986 - Culture studies in *Corticiaceae* (Basidiomycetes) *Windahlia* 15: 9-18.
- 26 - HALLENBERG N., 1986 - Cultural studies in *Tubulicrinis* and *Xenasmatella* (*Corticiaceae*, Basidiomycetes). *Mycotaxon* 27: 361-375.
- 27 - HALLENBERG N., 1987 - Culture studies in *Corticiaceae* (Basidiomycetes) II. *Windahlia* 17: 43-47.
- 28 - HALLENBERG N., 1988 - Species delimitation in *Corticiaceae* (Basidiomycetes). *Mycotaxon* 31: 445-465.
- 29 - HALLENBERG N. and BERNICCHIA A., 1987 - Cultural studies in *Fibrillum* (*Corticiaceae*, Basidiomycetes). *Mycotaxon* 30: 203-208.
- 30 - HALLENBERG N., HJORTSTAM K. and RYVARDEN L., 1985 - *Pirex* genus nova (Basidiomycetes, *Corticiaceae*). *Mycotaxon* 24: 287-291.
- 31 - JOB D.J., 1986 - Cultural and cytological studies in the genus *Hymenochaete* Lév. *Mycotaxon* 26: 223-234.
- 32 - KOPP B.R. and NAKASONE K.K., 1985 - Redisposition of *Radulum concentricum* (Aphyllophorales, *Corticiaceae*). *Mycotaxon* 24: 423-429.
- 33 - KORHONEN K. and KAUPPILA P., "1987" 1988 - The sexuality of *Phlebiopsis gigantea*. *Karstenia* 27: 23-30.
- 34 - LANQUETIN P., DUHEM B. et HENTIC R., 1987 - Première récolte de *Peniophora suecica* Litsch. en France. *Bull. Soc. Mycol. France* 103: 239-246.
- 35 - LEGER J.C. et LANQUETIN P., 1987 - Basidiomycètes Aphyllophorales de l'île Réunion. VII Le genre *Hymenochaete* Lév. *Bull. Soc. Mycol. France* 103: 19-53.
- 36 - LEGER J.C. et LANQUETIN P., 1989 - Premier *Hymenochaete* hétérothalle bipolaire, *H. boidinii* nov. sp. (Hyménomycètes Aphyllophorales). *Cryptogamie, Mycol.* 10: 321-330.
- 37 - LEGER J.C. et LANQUETIN P., 1990 - Morphologie et caractères cultureux d' *Hymenochaete adusta* (Lév.) Hariot et Patouillard. *Cryptogamie, Mycol.* 11: 157-165.
- 38 - NAKASONE K.K. and BURDSALL H.H. Jr., 1984 - *Merulius*, a synonym of *Phlebia*. *Mycotaxon* 21: 241-246.
- 39 - NAKASONE K.K. and MICALIS J.A., 1988 - *Scytinostroma galactinum* species complex in the United States. *Mycologia* 80: 546-559.

- 40 - OBERWINKLER F., BANDONI R.J., BAUER R., DEML G. and KISIMOVA-HOROVITZ L., 1984 - The life history of *Christiansenia pallida*, a dimorphic mycoparasitic Heterobasidiomycete. *Mycologia* 76: 9-22.
- 41 - SALIBA J. et DAVID A., 1988 - Apports des caractères cultureux et des confrontations dans l'étude des représentants européens du genre *Steccherinum* (Basidiomycètes, Aphyllophorales). *Cryptogamie, Mycol.* 9: 93-110.
- 42 - SALIBA-MARTIN J., 1986 - Etude biotaxonomique des espèces françaises de *Steccherinum* (Corticiaceae). Thèse inédite, Lyon, 134p. dact.

ENRICHMENT OF DESEEDED CAROB POD WITH FUNGAL PROTEIN

S. MARAKIS and S. DIAMANTOGLOU

University of Athens, Institute of General Botany,
157 84 Athens, Greece.

ABSTRACT - The carob tannin reduction and the enrichment of carob pod with fungal proteins by mixed cultures of *Aspergillus carbonarius* (Asca) and *Penicillium glabrum* (Pegl) in carob slurries, containing 2.5-15% carob and 0.5-2% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, was studied. Maximum protein percentages (24-25%) were found in the cultures with 2.5-5% carob and 1.5% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ concentrations, while the maximum production of total and fungal proteins were obtained in the media with 10-12.5% carob and 1.5% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. High tannin degradation was observed in low carob concentration (2.5-5%). The fermented carob pod, produced in 10% carob and 1.5% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, was poor in nucleic acids (4.8%), ash (4.2%) and tannins (0.4%). In rat feeding trials, this fermented carob pod had the following nutritional indices: protein efficiency ratio (1.52 ± 0.20), net protein utilization (0.52 ± 0.01), biological value (0.62 ± 0.02) and true digestibility (0.72 ± 0.02).

RÉSUMÉ - Etude de la réduction en tannins des caroubes, ainsi que de l'enrichissement de la caroube en protéines fongiques, au moyen de cultures mixtes d'*Aspergillus carbonarius* (Asca) et de *Penicillium glabrum* (Pegl) dans un broyat de caroubes contenant 2.5-15% de caroubes et 0.5-2% de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Les meilleurs pourcentages de protéines (24-25%) sont obtenus dans les cultures contenant 2.5-5% de caroubes et 1.2% de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ tandis que les productions maximales de protéines totales et de protéines fongiques sont atteintes dans les milieux contenant 10-12.5% de caroubes et 1.5% de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Les tannins sont mieux dégradés dans les cultures à basse concentration de caroubes (2.5-5%). Les caroubes fermentées, produites avec 10% de caroubes broyées et 1.5% de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sont pauvres en acides nucléiques (4.8%), en cendres (4.2%) et en tannins (0.4%). L'estimation nutritionnelle de ces caroubes fermentées a été déterminée par des essais sur rats; les valeurs des indices de nutrition sont: le coefficient d'efficacité protéique (1.52 ± 0.20), l'utilisation protéique nette (0.50 ± 0.01), la valeur biologique (0.62 ± 0.01) et le taux réel de digestibilité (0.72 ± 0.02).

KEY WORDS : carob, carob beans, carob slurry, tannins, fungal proteins.

INTRODUCTION

The need for alternative protein sources has been universally recognised and extensive researches into new methods have been projected for increasing world protein production. This paper deals with one of these solutions, that is producing fungal protein biomass from carob bean (fruit of *Ceratonia siliqua* L. tree). This inexpensive substrate is a Greek agricultural product of low nutritional value.

The ripe carob pod (pericarp), although rich in water soluble sugar (about 60%) (Marakis, 1985a; Marakis & Karagouni, 1985) has a very low protein content (3-5%) (Marakis et al., 1987), and contains high levels of total tannins (6%) (Marakis & Karagouni, 1985) mainly condensed (Tamir & Alumot, 1970) which minimize the nutritional value of carob bean (Vohra et al., 1966; Tamir & Alumot, 1970). The grafted variety (g-3) carob pod contains 12.5% lignin, 4.8% hemicelluloses (Marakis, 1980) and 6% cellulose (Marakis et al., 1987).

Speculations on the carob bean value have been common during the last decade. The fungal protein production from aqueous carob extract was studied by several investigators (Buendia et al., 1961; Sekeri-Pataryas et al., 1973; Drouliscos et al., 1976; Macris & Kokke, 1977, 1978; Charpentie & Marakis, 1980; Marakis, 1980, 1985a; Marakis & Karagouni, 1985), but protein production from carob pod slurry has not been investigated yet. Marakis (1985b) carried out a preliminary research about the enrichment of the carob pod with fungal protein. In an experimental study of carob pod improvement, by solid-substrate fermentation, a cake-like structure product, containing ca. 7% protein, was produced (Kokke, 1977). The above carob enrichment is very low, because the unfermented carob pod contains about 5% crude protein. However, the carob pod direct enrichment with fungal protein had to be studied for two basic reasons: 1. The water soluble (sugars, tannins) and water insoluble (cellulose, lignin) carob components could be fermented. 2. The production-cost of the fungal protein will be lower, because no energy is needed for the preparation of aqueous carob extract, which is used in liquid cultures.

The problem that appears in this case, lies in the supply of a microorganism or microorganisms with a wide enzymatic system and able to consume more fundamental carob components (carbohydrates, lignin, tannins). For this purpose, we recently carried out a microbial screening, isolating fungi from the leaves of evergreen sclerophyllous shrubs (Maquis) (unpublished data).

This paper describes the enrichment of carob pod with fungal protein, as well as the chemical analysis and nutritional evaluation of the enriched fermentation product.

MATERIALS AND METHODS

Microorganisms

The carob pod is a "difficult" growth medium, as it was called by FAO/WHO/UNICEF Protein Advisory Group (Tate & Lyle, 1971), and the complementary culture system, a mixed culture of *Aspergillus carbonarius* (Asca) and *Penicillium glabrum* (Pegl), was used. These microorganisms, isolated from the leaves of evergreen sclerophyllous shrubs, were chosen, because, in preliminary experiments, presented a significant tannin-lignocellulolytic activity.

Growth media

A quantity of g-3 variety carob bean was broken in pieces 3-5mm long. 200g chopped and deseeded carob pod were boiled for 1 min with 700ml of distilled water. The infusion, after it had cooled, was stirred in a dough mixer for 2 min, and the resultant slurry made up to 1l. Na_2HPO_4 was added to give 0.1% slurry. This slurry was then diluted with $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ solutions, so that resultant media contained 0.5-2% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ and 2.5-15% carob pod. The pH was buffered to 4.8-5. The carob slurry media were sterilized by autoclaving (15 min, 121°C).

Batch cultivation

Mixed cultures of *A. carbonarius* and *P. glabrum* were grown in 250ml Erlenmeyer flasks, containing 50ml of carob slurry. These flasks were inoculated with 2.10^7 spores of each used microorganism and incubated on reciprocal shaker (120 strokes per min) for 96h at 32°C. The above experiment was run in triplicate (3 flasks per run). The results were represented as mean values \pm standard error.

Harvesting and drying of fermented carob pod (FCP)

The FCP was harvested by filtration through Whatman n° 1 filter paper, washed with 50ml of distilled water and dried by lyophilization to constant weight.

Analytical methods

- True protein determination (protein nitrogen X6.25) and extraction of nucleic acids were carried out by the Delaney et al. (1975) method. RNA and DNA were estimated by Gottlieb & Van Etten (1964) and Dische (1955) methods respectively, using baker's yeast RNA and calf thymus DNA (both Sigma Chemical Co. Ltd St. Louis U.S.A.) as standards.

- Total lipids were determined by Winter (1963) method.

- Amino acid analysis and determination of water-soluble tannins, ash, moisture and caloric content were carried out as Marakis (1985a) described.
- B-group vitamins were determined by Bell (1974) method.
- Cellulose and lignin were determined by the Jermyn & Isherwood (1956), Van Soest (1963), Kirk & Kelmen (1965) and Updegraff (1969) methods.

Nutritional evaluation

The nutritional indices measured were protein efficiency ratio (PER), biological value (BV), true digestibility (TD) and net protein utilization (NPU).

The procedure of the rat feeding and nutritional indices calculation, was carried out as Eggum (1973) and Malefaki-Perela (1981) described.

The composition of experimental diets was described by Marakis (1985a) with the difference that the 196g of *A. carbonarius* biomass were replaced by 305g of fermented carob pod (FCP).

RESULTS AND DISCUSSION

The effects of both ammonium sulfate and carob pod concentrations on dry weight and protein contents of FCP

The effects of these two substrate parameters on FCP dry weight and protein contents are shown in Table I.

The higher percentage protein contents of the FCP occur in cultures containing lower carob pod concentrations. This may be due to the fact that it was impossible for the studied microorganisms to utilize equally, within 96h of incubation, the carob pod of the media on account of their different carob concentrations. As a result, the FCP proteins of the cultures, with higher carob concentrations, are distributed (diluted) into a greater amount of unutilized carob pod, in relation to the proteins of the lower carob concentrations. The latter (proteins), are distributed to a smaller amount of unconsumed carob pod. Thus, the lower the carob/(NH₄)₂SO₄ ratio for any ammonium sulfate concentration the greater the protein content of the FCP was. This is in agreement with results reported by Marakis (1985b). The maximum (24-25%) protein contents of the FCP, occurring in the cultures with 2.5-5% carob and 1.5% (NH₄)₂SO₄ concentrations, are comparable to or higher than most of the other slurry single cell protein production systems (Chachal & Gray, 1969; Han, 1975; Peitersen, 1975; Brown & Fitzpatrick, 1976; Karapinar & Worgan, 1983), but lower than many of the liquid fermentations, which, of course, are solely the mycelial proteins. In primary liquid shaker mixed culture of *A. carbonarius* and *P. glabrum*, we found a

mycelium true protein content of 35%. It must be remembered that in liquid fermentations, there is no residual solid substrate to dilute the fungal protein, produced during fermentation.

Table 1 - Dry weight (mg/flask), percentage and quantity (mg/flask), of total protein, quantity of fungal protein (mg/flask) and yield (g of total protein/100g of carob pod) produced in carob pod slurries fermented by mixed culture of *A. carbonarius* and *P. glabrum*.

Tableau 1 - Poids de matière sèche, pourcentage et quantité de protéines totales, quantité de protéines fongiques et rendement produits dans les broyats de caroubes fermentées, au moyen de la culture mixte d'*A. carbonarius* et de *P. glabrum*.

Examined parameters	carob pod (NH ₄) ₂ SO ₄ (%)	2.5	5.0	7.5	10.0	12.5	15.0
FCP dry weight	0.5	779±4	1083±2	1498±5	2137±4	2570±7	2725±4
	1.0	778±3	1452±4	2075±3	2547±3	3319±3	3577±8
	1.5	782±2	1430±3	2293±2	3082±9	3985±5	3836±3
	2.0	796±5	1442±6	2180±4	2634±3	3564±6	3758±6
protein content, %	0.5	21.6	21.1	18.8	16.6	14.5	13.1
	1.0	23.3	22.3	21.3	19.4	17.5	15.1
	1.5	25.0	24.1	22.3	21.2	19.4	17.3
	2.0	22.2	21.2	20.5	19.8	17.1	15.2
total protein	0.5	168.3	228.5	281.6	354.7	372.7	357.0
	1.0	181.3	323.8	442.0	494.1	580.8	540.1
	1.5	195.5	344.6	511.3	653.4	773.1	663.6
	2.0	176.7	305.7	446.9	521.5	609.4	571.2
fungal protein	0.5	118.3	128.5	131.6	154.7	122.7	57.0
	1.0	131.3	223.8	292.0	294.1	330.8	240.1
	1.5	145.5	244.6	361.3	453.4	523.1	363.6
	2.0	126.7	205.7	296.9	321.5	359.4	271.2
yield	0.5	13.5	9.1	7.5	7.1	6.0	4.8
	1.0	14.5	13.0	11.8	9.9	9.3	7.2
	1.5	15.7	13.8	13.6	13.1	12.4	8.9
	2.0	14.1	12.2	11.9	10.4	9.8	7.6

The dry weight and the total protein (mg/flask) of the FCP increase with increasing the carob concentrations acquiring values up to 3985 and 773mg/flask respectively in cultures with 12.5% carob and 1.5% (NH₄)₂ SO₄. Production of protein could be obtained in concentrations of 773mg/flask, equivalent to 15.5g Total True Protein per Litre (TTPL), well in excess of other fungal slurry fermentations (Gray & Abou-el-Seoud, 1966a,b; Reade et al., 1972; Rogers et al., 1972; Marakis, 1985b).

By subtracting the protein content of the unfermented carob pod from the total protein FCP, the de novo protein amount due to fungal synthesis was calculated. The results reveal that the fungal protein production increased as carob pod concentration climbed up to 12.5%, acquiring maximum values (453-523mg/flask) in cultures with 10-12.5% carob and 1.5% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

The relationship between the efficiency of protein production and carob pod as well as $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ concentrations showed a different figure, compared to the above mentioned results (see total and fungal proteins). Here, the yields (g of total protein produced per 100g carob pod) decreased as the carob concentrations increased and the $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ decreased. The maximum efficiency of protein production (15.7mg/100g carob) was observed in culture with 2.5% carob and 1.5% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Having in mind the above data we can pose a question: which would be better for a single cell protein production process, a high TTPL or a high substrate conversion efficiency? If the cost of harvesting was of prime consideration then it might be advantageous to harvest a system producing maximal TTPL's. In this case, 10-15% carob with 1-2% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ would be suitable. But, if maximum conversion efficiencies are sought, then 2.5-5% carob with 1-2% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ would be more suitable. In the first case of fermentation, more power might be needed to aerate a 10-15% carob slurry than is necessary for cultures, containing 2.5-5% carob pod. The media with high carob concentrations should contain higher amounts of tannins and reducing sugars than the ones in media with low carob concentrations. But, high concentrations of readily consumed carob components (e.g. sugars) depress, at least in the first stages of the fermentation, the utilizing of other carbon sources (lignin, cellulose, etc.). Such a depression could have been caused by glucose presence (glucose effect). The poor aeration may also reduces the biomass yield ($y = [\text{g}] \text{ mycelium dry weight} / [\text{g}] \text{ consumed sugars}$). The significant fall of the fungal protein production in cultures with greater than the 12.5% carob concentrations is possibly due to high tannin and readily consumed sugar concentrations as well as to inadequate aeration. Therefore, the culture conditions, i.e. carob and $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ concentrations, incubation time, as well as their effects on the tannin-lignocellulolytic activity have to be researched.

Tannin degradation

The percentage of tannin degradation, lightly increased with the increase of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, while a decrease was observed when carob concentrations increase, and particularly, in cultures with higher than the 10% carob pod (Tab. II). The maximum percentages (92-95%) of tannin degradation were observed in low carob concentrations (2.5-5%). *A. carthagenus* and *P. glabrum* under culture conditions, managed to degrade up to

240mg of tannins per flask, in the cultures containing 0.60-0.75% carob tannins (i.e. 10-12.5% carob pod).

Table II - Percentage of tannin degradation by mixed culture of *A. carbonarius* and *P. glabrum* in carob slurry media.

Tableau II - Pourcentage de tannins dégradés, au moyen de la culture mixte d' *A. carbonarius* et de *P. glabrum* dans des milieux de suspensions de caroubes.

Carob pod (%) (NH ₄) ₂ SO ₄ (%)	2.5	5	7.5	10	12.5	15
0.5	92.3	92.1	86.0	75.2	57.1	41.2
1.0	93.4	93.2	86.8	78.8	61.0	48.0
1.5	94.8	94.5	89.8	80.8	64.1	51.1
2.0	95.4	95.2	90.4	81.7	66.2	52.6

The FCP produced in higher carob concentration cultures was richer in tannins than that in lower carob concentrations; From the total proteins-total tannins ratio in the FCP (Tab. III) we get the following results: The richer in proteins and poorer in tannins FCP was produced in cultures with lower carob and higher (NH₄)₂ SO₄ concentrations.

Table III - Total proteins total tannins ratio of the FCP produced by mixed culture of *A. carbonarius* and *P. glabrum*.

Tableau III - Rapport des protéines totales sur tannins totaux de caroubes fermentées, au moyen de la culture mixte d' *A. carbonarius* et de *P. glabrum*.

Carob pod (%) (NH ₄) ₂ SO ₄ (%)	2.5	5	7.5	10	12.5	15
0.5	69.4	44.7	35.1	31.5	25.7	22.3
1.0	87.1	74.6	66.3	51.1	45.6	39.7
1.5	103.7	88.1	80.9	70.3	65.4	50.6
2.0	106.0	87.0	79.2	67.3	60.3	48.1

The significant tannin reduction, constitutes a remarkable feature in the mixed culture of examined microorganisms, because carob pod is rich in condensed tannins which are resistant to microbial degradation. In aqueous carob extract fungal cultures (Seker-Pataryas et al., 1973; Macris & Kokke, 1977), the initial tannins did not affect the mycelial growth and not been consumed either. The tannin problem did not occupy the above workers, although tannins play an important role in the decrease of carob nutritional value.

Kokke (1977) found that fermented products in carob solid-fermentations gave negative values of tannins. It seems unlikely, because, as he reported, water soluble sugars were not completely used. He rather deter-

mined a tannin fraction (e.g. tannic acid) than the total tannin contents of the fermented carob pod.

Gross composition of the FCP

Table IV presents the gross composition and metabolizable energy of the FCP produced in culture with 10% carob and 1.5% $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$. This FCP was chosen for chemical analysis and nutritional evaluation due to the maximum amounts (mg/flask) of tannin and lignocellulose degradation, and the culture aeration, in 10% carob, being easier than that in cultures with higher carob concentrations; although in the latter, 16% higher de novo protein was produced. The true protein content (21%) of the FCP is higher than that (7%) of crude protein reported by Kokke (1977). The FCP protein and ash contents are considered to be acceptable. From a nutritional aspect it is important that ash percentage is low, normally less than 5% in the compounded feed. The nucleic acid and tannin contents of the FCP are low. Tannin level (0.4%) has been shown not to detract the nutritional quality of FCP.

Table IV - Gross composition and metabolizable energy of the FCP produced by mixed culture of *A. carbonarius* and *P. glabrum* in medium with 10% carob and 1.5% $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$. (239 Kcal = 1 MJ of metabolizable energy).

Tableau IV - Composition et énergie métabolisable de caroubes fermentées au moyen de la culture mixte d'*A. carbonarius* et de *P. glabrum* dans un milieu à 10% de caroubes et à 1,5% de $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$. (239 Kcal = 1 MJ de l'énergie métabolisable).

True protein	21.2% on dry weight
Total nucleic acids	4.8% on dry weight
Total tannins	0.4% on dry weight
Total lipid	6.1% on dry weight
Cellulose	4.5% on dry weight
Lignin	9.1% on dry weight
Ash	4.2% on dry weight
Moisture	4.7% on dry weight
Pyridoxine	119.0 µg/g of dry weight
Biotin	1.1 µg/g of dry weight
Pantothenic acid	39.0 µg/g of dry weight
Nicotinic acid	108.5 µg/g of dry weight
B ₂	68.1 µg/g of dry weight
B ₁₂	23.2 µg/g of dry weight
Metabolizable energy	10.8 MJ/Kg of dry weight

The deseeded carob pod contains 12.5% lignin and 6% cellulose (Marakis, 1980; Marakis et al., 1987), while the cellulose and lignin contents of FCP was 4.5% and 9.1% respectively. On the basis of the above contents and given that the FCP dry weight was 3.1g/flask, the cellulose and lignin degradation was found to be 53% and 55% (on the initial content) respectively. For the utilization of cellulose and hemicelluloses it is necessary to

degrade lignin (Asther et al., 1987). Since cellulose and lignin are of little nutritional value, because they affect the true nitrogen digestibility (Malefaki-Perela, 1981), these substances should be even more degraded. This might probably be achieved by prolonging the incubation time beyond 96h. The role of tannins on the decomposition of cellulose, hemicelluloses and lignin by fungal activity was not discussed here. In preliminary experiments an intense cellulase and ligninase activity was found in mixed cultures of *A. carbonarius* and *P. glabrum*. Considerable effects, in this field, are taking place in our laboratory nowadays.

B-group vitamin contents of the FCP, satisfy the requirements for a microbial protein production system. The riboflavin content is in agreement with that reported by Marakis (1985a), but it is 70% higher than the observed by Forage (1978). Metabolizable energy is at a level comparable to that reported by Marakis (1985a), Forage (1978) and Sell et al. (1981).

The amino acid composition of FCP (Tab. V) is favourably compared with the Smith et al. (1975) references for the growing rat and pig requirements and the United Nations FAO/WHO (1965) reference protein; except sulfur-amino acid contents which were low, like many microbial proteins. Total essential amino acid content was comparable or superior to other microbial products (Drouliscos et al., 1976; Kokke, 1977; Marakis, 1985a) and certain agricultural by-products of vegetable origin (Malefaki-Perela, 1981).

Table V - Amino acid composition (g/16g N) of the FCP produced by mixed culture of *A. carbonarius* and *P. glabrum* in medium with 10% carob and 1.5% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Tableau V - Composition en acides aminés (g/16 g N) de caroubes fermentées, au moyen de la culture mixte d' *A. carbonarius* et de *P. glabrum* dans un milieu à 10% de caroubes et à 1,5% de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Phe	5.1	Arg	5.2
Tyr	4.5	Trp	0.7
His	3.1	Total FAA	51.0
Ile	5.4	Asp	9.2
Leu	6.8	Ser	4.1
Lys	5.4	Glu	12.5
Met	1.7	Pro	3.6
Cys	1.6	Gly	3.9
Thr	5.0	Ala	5.5
Val	6.5	Total AA	89.8

Nutritional quality of the FCP

An examination of the Table VI shows that PER and NPU values of FCP are lower than those of soya bean oil meal, but higher than the ones found by Smith et al. (1975) and Drouliscos et al. (1976). The TD is generally low. This could be due to a certain lignocellulose content of the FCP.

Malefaki-Perela (1981) found a negative correlation between true digestibility and lignocellulose. Comparison of our data with previously reported nutritional indices of *A. carbonarius* (AsDT10) biomass, grown in aqueous carob extract (Marakis, 1985a), showed that the FCP was of a lower nutritional quality than the one of *A. carbonarius* biomass. In our case, the compound, cellulose or lignin, affecting more the nutritional indices is unknown. This problem is open for discussion. Tannin content (0.4%) of the FCP does not appear to present a toxicological problem or to depress protein digestibility and utilization. During the experimental period, rats didn't lose their appetite.

Table VI - Nutritional indices of FCP produced by mixed culture of *A. carbonarius* and *P. glabrum* in medium with 10% carob and 1.5% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Tableau VI - Indices de nutrition de caroubes fermentées, au moyen de la culture mixte d'*A. carbonarius* et de *P. glabrum* dans un milieu à 10% de caroubes et à 1.5% de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Indices	Diets	
	Fermented residue	Soy bean oil meal
Protein efficiency ratio (PER)	1.52±0.20	2.6±0.15
Biological value (BV)	0.62±0.01	0.68±0.02
True digestibility (TD)	0.72±0.02	0.89±0.01
Net protein utilization (NPU)	0.52±0.01	0.60±0.01

Which protein production system is better? one or two-step carob pod fermentations?

In reply to the above question and in order to establish an econometric model for the upgrading of carob value, the growth of mixed culture of *A. carbonarius* and *P. glabrum* should be separately studied in aqueous carob extract and spent carob (extracted carob pod).

We supposed that microorganisms must use the carob components (carbohydrates, lignin, tannins, etc.) differently, when they are all together (one-step) than when they are found separately (two-step system). This happens because the presence of one component in the substrate influences the utilization of the other (e.g. glucose effect phenomenon).

Marakis (1980) in a preliminary study about fungal protein production by fermenting carob pod in the two-step system, observed that the total protein (mg/flask) was higher in two-step system fermentation than those in one-step system. While protein productivity (g/l of medium/h) was 20% higher in one step than that in two-step fermentation system.

CONCLUSION

The mixed culture of *A. carbonarius* and *P. glabrum* in carob pod slurries gave a fermented product relatively rich in true protein with balanced amino acid profile, poor in nucleic acids, ash and tannins. Although, the degradation of cellulose and lignin was moderate, the results obtained from this study suggest that the above mixed culture could be considered a safe and promising system, to use for improving carob bean value.

REFERENCES

- ASTHER M., CORRIEU G., DRAPON R. and ODIER E., 1987 - Effect of tween 80 and oleic acid on ligninase production by *Phanerochaete chrysosporium* INA-12. *Enzyme Microbiol. Technol.* 9: 245-249.
- BELL G.J., 1974 - Microbiological assay of vitamins of the B-group in foodstuffs. *Lab. Pract.* 23: 235-242.
- BROWN D.E. and FITZPATRICK S.W., 1976 - Food from waste paper. In: BERCH G.G., PARKER K.J. & WORGAN J.T., *Food from waste*. London, Appl. Sci. Publ.: 139-155.
- BUENDIA M., ARROYO V., INIGO B. and GARRIDO J.M., 1961 - Production of edible yeast with extract of carob fruit. *Revista Ci. Aplicada* 15: 385-391.
- CHARPENTIER M.J. et MARAKIS S., 1980 - La mycoflore des caroubes. *Cryptogamie, Mycol.* 1: 165-174.
- CHACHAL D.S. and GRAY W.D., 1969 - Growth of cellulolytic fungi on wood pulp I. Screening of cellulolytic fungi for their growth as wood pulp. *Indian Phytopathol.* 22: 79-84.
- DELANEY R.A.M., KENNEDY R. and WALLEY B.D., 1975 - Composition of *Saccharomyces fragilis* biomass grown on lactose permeate. *J. Sci. Food Agric.* 26: 1177-1186.
- DISCHE Z., 1955 - Color reaction of nucleic acid components. In: CHARGAFF E. & DAVIDSON J.N., *The nucleic acids*. New York, Academic Press: 295-305.
- DROULISCOS N.J., MACRIS B.J. and KOKKE R., 1976 - Growth of *Fusarium moniliforme* on carob extract and nutritional evaluation of its biomass. *Appl. Environ. Microbiol.* 31: 691-694.
- EGGUM B.O., 1973 - A study of certain factors influencing protein utilization in rats and pigs. In: EGGUM B.O., *Beretning fra forsøgslaboratoriet*. Copenhagen, Landhusholdningsselskabets forlag N° 406: 8-147.
- FORAGE A.J., 1978 - Recovery of yeast from confectionery effluent. *J. Process Biochem.* 13 (1).
- GOTLIEB D. and VAN ETEN J.L., 1964 - Biochemical changes during the growth of fungi. I. Nitrogen compounds and carbohydrate changes in *Penicillium atrovenetum*. *J. Bacteriol.* 88: 114-121.
- GRAY W.D. and ABOU-EL-SEUD M., 1966a - Fungal protein for food and feeds. IV. Whole sugar beets or beet pulp as a substrate. *Econ. Bot.* 20: 372-376.

- GRAY W.D. and ABOU-EL-SEOUD M., 1966b - Fungal protein for food and feeds. III. Manioc as a potential crude raw material for tropical areas. *Econ. Bot.* 20: 251-255.
- HAN Y.W., 1975 - Microbial fermentation of rice straw: Nutritive composition and in vitro digestibility of the fermentation products. *Appl. Microbiol.* 29: 510-514.
- JERMYN M.A. and ISHERWOOD F.A., 1956 - Changes in the cell wall of the pear during ripening. *Biochem. J.* 64: 123-132.
- KARAPINAR M. and WORGAN J.T., 1983 - Bioprotein production from the waste products of olive oil extraction. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 33B: 185-188.
- KIRK T.K. and KELMAN A., 1965 - Lignin degradation as related to the phenoloxidases of selected wood - decaying Basidiomycetes. *Phytopathology* 55: 739-745.
- KOKKE R., 1977 - Improvement of carob pods as feed by solid-substrate fermentation. *J. Appl. Bacteriol.* 43: 303-307.
- MACRIS B.J. and KOKKE R., 1977 - Kinetics of growth and chemical composition of *Fusarium moniliforme* cultivated on carob aqueous extract for microbial protein production. *Eur. J. Appl. Microbiol.* 4: 93-99.
- MACRIS B.J. and KOKKE R., 1978 - Continuous fermentation to produce fungal protein. Effect of growth rate on the biomass yield and chemical composition of *Fusarium moniliforme*. *Biotechnol. Bioeng.* 20: 1027-1035.
- MALEFAKI-PERELA B., 1981 - "Intérêt d'une protéine des sous-produits agricoles d'origine végétale". Thèse de Doctorat, Univ. Patra (en grec).
- MARAKIS S., 1980 - "New fungal strains for microbial protein production from carob beans". Ph. D. Thesis, Univ. Athens (in greek).
- MARAKIS S., 1985a - Screening tannin-utilizing filamentous fungi for protein production from aqueous carob extract. *Cryptogamie, Mycol.* 6: 293-308.
- MARAKIS S., 1985b - Enrichment of the carob hask with fungal protein. Proc. 4th Symp. Hellenic Bot. Soc. (Greece, Thessaloniki, 23-24 March): 163-171.
- MARAKIS S. and KARAGOUNI A., 1985 - Screening of carob bean yeasts. Chemical composition of *Schizosaccharomyces versatilis* grown on aqueous carob extract. *Biotechnol. Lett.* 7: 831-836.
- MARAKIS S., KALAITZAKIS J. and MITRAKOS K., 1987 - Criteria for recognizing carob tree varieties. In: FITO P. & MULET A., Proc. IInd Int. Carob Symp. (Spain, Valencia, 29 Sept.-1 Oct.): 195-208.
- PEETERSEN N., 1975 - Production of cellulose and protein from barley straw by *Trichoderma viride*. *Biotechnol. Bioeng.* 18: 361-374.
- READE A.E., SMITH A.E. and PALMER R.M., 1972 - The production of protein for non ruminant feeding by growing filamentous fungi on barley. *Biochem. J.* 127: 132.
- ROGERS C.J., COLEMAN E., SPINO D.F. and PURCELL T.C., 1972 - Production of fungal protein from cellulose and waste cellulotics. *Environ. Sci. Technol.* 6: 715.

- SEKERI-PATARYAS K.E., MITRAKOS K.A. and GEORGI M.K., 1973 - Yields of fungal protein from carob sugars. *Econ. Bot.* 27: 311-319.
- SELL J.L., ASHRAF M. and BALES G.L., 1981 - Yeast single-cell protein as a substitute for soybean meal in broiler diets. *Nutrition Rep. Int.* 24: 229-235.
- SMITH R.H., PALMER R. and READE A.E., 1975 - A chemical and biological assessment of *Aspergillus oryzae* and other filamentous fungi as protein for simple stomached animals. *J. Sci Food Agric.* 26: 785-795.
- TAMIR M. and ALUMOT E., 1970 - Carob tannins-growth depression and levels of insoluble nitrogen in the digestive tract of rats. *J. Nutr.* 100: 573-580.
- TATE and LYLE Ltd, 1971 - Group Research and Development, England. Comments by Tate and Lyle on the report of a Consultative Group of the FAO/WHO/UNICEF Protein Advisory Group.
- UNITED NATIONS FAO/WHO, 1965 - Protein requirements. *Nutrition Meet. Rep.* n° 37.
- UPDEGRAFF D.M., 1969 - Semi-micro determination of cellulose in biological materials. *Analytical Biochem.* 32: 420-424.
- VAN SOEST P.J., 1963 - Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for determination of fiber and lignin. *J. Assoc. Offic. Agric. Chem.* 46: 829-835.
- VOHRA P., KRATZER F.H. and JOSLYN M.A., 1966 - The growth depressing and toxic effects of tannin to chicks. *Poultry Sci.* 45: 135-142.
- WINTER E.Z., 1963 - Über ein neues Verfahren zur Bestimmung und Untersuchung von Fetten in Lebensmitteln. *Lebensmittel-Unters. & Forsch.* 123: 205-210.

L'ÉTUDE ULTRASTRUCTURALE DES ASQUES ET DES ASCOSPORES DE L' *URNULA HELVELLOIDES* DONADINI, BERTHET et ASTIER ET LES CONCEPTS D'ASQUE SUBOPERCULÉ ET DE SARCOSOMATACEAE⁽¹⁾

A. BELLEMÈRE*, M.C. MALHERBE*, H. CHACUN*
et L.M. MELÉNDEZ-HOWELL**

* Laboratoire de Mycologie, ENS Lyon, Services de
Saint-Cloud, F-92211 Saint-Cloud Cedex, France.

** CNRS. Laboratoire de Cryptogamie du Muséum
d'Histoire Naturelle, 12 rue Buffon, 75005 Paris,
France.

RÉSUMÉ - Le sub-opercule (ou sous-opercule) de l'asque est considéré ici comme la partie périoperculaire d'une différenciation persistante qui, dans la couche d, épaissie, de la paroi apicale de l'asque, affecte la sous-couche d₂. Les genres de Pézizales à asques suboperculés rangés jusqu'ici dans la famille des Sarcosomataceae (sensu Kobayasi) sont placés dans la famille des Sarcoscyphaceae Le Gal ex Eckblad, amendée en ce sens, et conservée dans les Pézizales. Les asques du genre type de la famille des Sarcosomataceae, *Sarcosoma*, ainsi que ceux des genres *Urnula* et *Plectania* ne sont pas suboperculés car l'épaississement apical de la couche d de leur paroi n'est pas subdivisé en deux sous-couches. La définition de cette famille doit donc aussi être amendée. L' *Urnula helvelloides* Donadini, Berthet et Astier a des asques operculés, dont, à l'apex, la couche d est non seulement épaissie mais subdivisée en deux sous-couches d₁ et d₂, comme chez le genre *Plectania*, dont il diffère cependant par ailleurs. Il est donc placé dans le genre nouveau *Donadinia* Bellemère et Meléndez-Howell. Celui-ci est rangé dans les Sarcosomataceae près du genre *Pseudoplectania* avec lequel il constitue une tribu distincte (Pseudoplectaniae). Le genre *Galiella* n'est pas une Sarcoscyphaceae, car il a des asques operculés. Ce n'est pas non plus une Sarcosomataceae s. stricto car la paroi amincie de l'apex de ses asques ne comporte pas de couche d.

ABSTRACT - The suboperculum is here envisaged as the periopercular part of a persisting differentiation which concerns the d₂ sublayer of the thickened d layer in the apical ascus wall. The genera of the Pezizales with suboperculate asci, previously placed in the Sarcosomataceae (sensu Kobayasi), are now integrated in the correlative-ly amended Sarcoscyphaceae Le Gal ex Eckblad which are maintained in the Pezi-

(1) Cet article est dédié au regretté J.C. DONADINI, mycologue éminent, qui nous avait fourni les échantillons frais de l' *Urnula helvelloides* à l'origine de ce travail.

zales. The definition of the Sarcosomataceae (as those of the genera *Urnula* and *Plectania*) has also to be amended because the asci of the type genus, *Sarcosoma*, are not suboperculate but are operculate with a thickened but not subdivided d layer at their apex. In *Urnula helvelloides* Donadini, Berthet et Astier, with operculate asci, the thickened apical d layer is subdivided at the operculum level into d₁ and d₂ sublayers as in the genus *Plectania* which, however, is different. So this species is placed in a new genus *Donadinia* Bellemère et Meléndez-Howell. The two genera *Pseudoplectania* and *Donadinia* are integrated into a separate tribe of the Sarcosomataceae the Pseudoplectaniaceae. The genus *Galiella* is neither a Sarcoscyphaceae nor a Sarcosomataceae s. stricto because the wall of its operculate asci becomes thinner at the apex and is entirely devoided of a d layer.

MOTS CLÉS : Pézizales, Sarcosomataceae, Sarcoscyphaceae, asque, opercule, sous-opercule, suboperculés, déhiscence, ascospores, parois.

L'*Urnula helvelloides* Donadini, Berthet et Astier, a été décrit initialement (1973) sur branches mortes d'If, au niveau de la litière, dans la hêtraie de la Sainte Baume (France, Var). Cette espèce a été ultérieurement transférée dans le genre *Plectania* par Donadini (1987b: 228). Le présent travail avait pour objectif initial d'apporter des précisions ultrastructurales sur les asques et les ascospores de cette espèce comparativement aux espèces types des genres *Plectania* et *Urnula*. Les résultats obtenus ont conduit à élargir les recherches à d'autres genres de la famille des Sarcosomataceae s.l. (Eriksson, 1984) pour lesquels du matériel était disponible.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'origine du matériel étudié est la suivante:

Urnula helvelloides Donadini, Berthet et Astier [= *Plectania helvelloides* (Donadini, Berthet et Astier) Donadini]. Récolté par J.C. Donadini, dans son jardin à la Penne sur Huveaune (France, près de Marseille), où il était parvenu à naturaliser la souche provenant de la récolte de la Sainte Baume sur *Taxus baccata* (Donadini et al., 1973).

Plectania melastoma (Sow.) Fuck. Récolté par Dumée, juin 1891, Meaux. Muséum d'Histoire Naturelle de Paris, Herbarium Boudier.

Urnula craterium (Schw.) Fr. On the roots of old decaying buried branches of *Corylus avellana* and *Populus tremula*. Södermanland: Hyllinge parish, Menaredalen, 15-4-1933, Lars Malm. Fungi exs. Suec., Praeset. Upsalienses, 188.

Pseudoplectania nigrella (Pers.) Fuck. Obtenu à une exposition lors d'une réunion de la Société Mycologique de France en mai 1969. Origine inconnue.

Sarcosoma globosum (Schmid. ex Fr.) Casp. Under *Pinus banksiana*. Cedar L. 28 mi. N of Vermilion Bay, Kenora D. Ont. Canada, 3th june 1956. Collect., det., R.F. Cain. Univ. Toronto, Cryptog. Herbarium, 32889.

Galiella rufa (Schw.) Nannf. et Korf. On twigs on the ground, Miami. Whitewater Forest Park, Hamilton Co, Ohio, USA, 7-2-1960. Herbario W.M. Bridge Cooke n° 31897.

A l'exception de ceux du *Pseudoplectania helvelloides* qui ont été fixés à l'état frais, 48h après récolte, les échantillons provenant d'herbiers ont été réhydratés pendant environ 24h préalablement à leur fixation. Les techniques ultrastructurales qui ont été utilisées sont classiques (Bellemère, 1977); les coupes ont été observées après la réaction Patag (= technique de Thiéry, 1967) qui révèle certains polysaccharides.

La terminologie utilisée pour la description des structures fines des parois des asques et des ascospores est celle employée par Bellemère & Meléndez-Howell (1976) et Bellemère et al. (1981).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

L'ultrastructure des asques de l'*Urnula helvelloides* Donadini, Berthet et Astier (Pl. I, II; Fig. 1).

La paroi de l'asque (Pl. IIA; Fig. 1C). L'essentiel de la paroi de l'asque est formé par la couche c, finement granuleuse, qui comporte 3 sous-couches c1, c2, c3. La plus interne, c3, plus développée, est assez réactive au test Patag; sa structure est granuleuse. La sous-couche c2, mince, est à peine réactive; c1, également mince, l'est un peu plus. La couche b, claire et extrêmement mince, n'est distincte qu'aux endroits où la coupe est bien orthogonale à la paroi. La couche a forme un très mince liséré sombre autour de l'asque. A l'extérieur, le périascus, transparent et mince, est revêtu d'une fine couche de granules Patag⁺. En profondeur, au contact du plasmalemme de l'asque fortement réactif, on ne distingue pas de couche d.

L'apex de l'asque en maturation (Pl. IA, B; Fig. 1A). La couche c de la paroi s'amincit faiblement et progressivement vers le sommet de l'asque en devenant pour une large part fortement Patag⁺, car elle se charge de très fins et très nombreux granules sombres. Sous la couche c, une couche d, bien distincte, est développée. Elle recouvre l'épiplasme d'une mince coupole dont la face inférieure est onduleuse. Elle est subdivisée en 2 sous-couches d1 et d2. La sous-couche d1, externe, d'épaisseur irrégulière, est fortement réactive au test Patag. Elle est séparée de la sous-couche d2, plus interne et moins réactive, par une très mince lamelle claire, d'épaisseur irrégulière. Extérieurement à l'asque, le périascus reste mince et transparent.

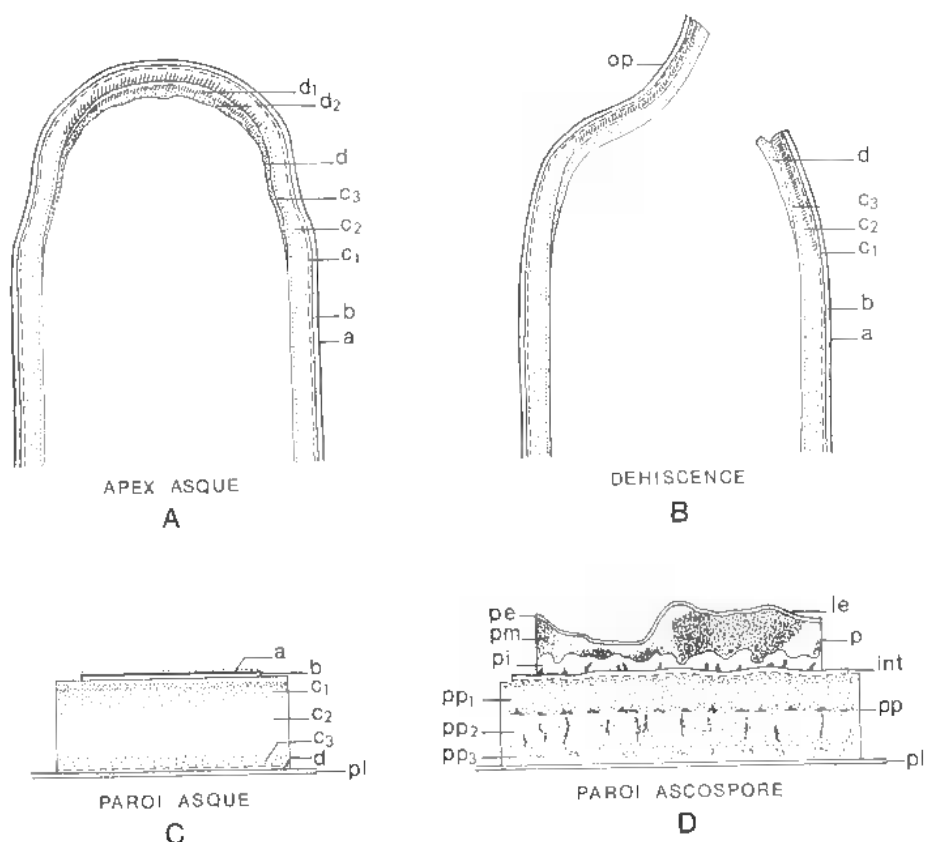


Fig. 1. - *Donadinia helvelloides* (= *Urnula helvelloides*) (schémas). - A: Structure du sommet de l'asque. - B: Déhiscence de l'asque. - C: Structure de la paroi de l'asque. - D: Structure de la paroi de l'ascospore.

Fig. 1. - *Donadinia helvelloides* (= *Urnula helvelloides*) - A: Structure of the ascus top. - B: Ascus dehiscence. - C: Wall structure of the ascus. - D: Structure of the ascospore wall.

La déhiscence de l'asque (Pl. IC; Fig. 1B). Au moment de la déhiscence, la différenciation Patag⁺ de la couche *c* est en partie effacée à l'apex de l'asque, sauf au contact avec la couche *d* où persiste une mince strate très réactive. La zone de déhiscence, autour du futur opercule, est assez complexe. Elle est constituée, dans la couche *c*, d'une étroite région annulaire claire, et, dans la couche *d*, d'une autre région de même aspect mais plus étroite et plus interne.

Après la déhiscence, le rebord du pore operculaire a donc une section en forme de marche d'escalier.

La paroi des ascospores (Pl. 1A, 11B; Fig. 1D). En début de maturation (Pl. 1A) elle est constituée essentiellement par la paroi propre, au sens de Bellemère & Meléndez-Howell (1976). Celle-ci a un aspect relativement clair, surtout dans sa partie profonde. Une mince périspore, réactive au test Patag, d'épaisseur inégale, constitue la partie externe de la paroi. Elle recouvre une très mince paroi intermédiaire, d'aspect clair, dont la structure est difficile à analyser. Quand la spore est mûre (Pl. 11B) sa paroi propre est plus différenciée. On y distingue alors 3 sous-couches. La plus externe (pp1), la plus épaisse, est aussi celle qui est la plus réactive et dont la texture est la plus grossière. La sous-couche moyenne (pp2) a une trame assez claire. La sous-couche profonde (pp3), la moins épaisse, est à peine plus réactive. A cette stratification de la paroi propre s'ajoute une différenciation radiaire sous forme de minces bandes rayonnantes irrégulières, constituées de granules différant par leur taille et leur réactivité. Ils sont souvent plus sombres à l'interface entre les sous-couches ce qui renforce l'aspect stratifié de la paroi propre. Il est à remarquer que certains granules Patag⁺ légèrement plus gros, et plus réactifs, se surimposent aux granules dont il vient d'être question. Leur disposition est irrégulière et largement indépendante des strates reconnues dans la paroi ascosporale: certains d'entre eux se trouvent, par exemple, dans la périspore interne claire ou à cheval sur la base de celle-ci et la paroi intermédiaire, ou même à l'extérieur de la paroi propre. Ces granules sont probablement des granules pigmentaires car on sait que la répartition de ceux-ci est souvent aléatoire dans les parois ascosporales (Bellemère & Hafellner, 1982). La paroi intermédiaire est réduite à une très mince zone lamellaire grise. La périspore qui s'est un peu développée s'est différenciée en 3 sous-couches. La périspore interne, claire, d'épaisseur assez réduite et irrégulière, forme, à l'extérieur de la paroi intermédiaire, de courtes protubérances dont la section est plus ou moins hémisphérique. La périspore moyenne, la plus développée, est, elle aussi, d'épaisseur irrégulière. Elle est grossièrement granuleuse et fortement, mais diversement, réactive. La périspore externe n'est qu'une très mince lamelle claire sous la limitante externe de la spore. Le jeune **sporoplasme** renferme de nombreux corps lipidiques très réactifs et un peu de glycogène (Pl. 1A).

Le jeune **épiplasma** contient çà et là du glycogène en amas denses formés de grains fins et aussi des corps lipidiques. Il se vacuolise précocement.

Les paraphyses (Pl. 11C), plus longues que les asques, assez larges et irrégulièrement bosselées vers leur sommet, ont des vacuoles contenant chacune un gros granule, assez réactif, d'aspect caverneux. De tels granules paraissent faire défaut dans les poils hyméniaux qui ont un cytoplasme plus dense. La gelée hyméniale est finement granuleuse et dense (Pl. 11C).

Comparaison ultrastructurale des asques de l' *Urnula helvelloides* Donadini, Berthet et Astier avec ceux des espèces types des genres *Plectania* Fuck. et *Urnula* Fr.

1) Comparaison avec les asques de *Plectania melustoma* (Sow.) Fuck., espèce type du genre *Plectania* (Pl. III; Fig. 2A, 3A).

- *Références.*

Jusqu'à présent les asques de cette espèce n'ont pas été étudiés en microscopie électronique. Van Brummelen (1978, 1981) a donné des figures concernant *Plectania platensis* (Speg.) Rifaï (as *Urnula plutensis* Speg.).

- *Observations.*

La paroi de l'asque (Pl. IIIA, C; Fig. 2A) est essentiellement formée par la couche c, peu réactive, comportant 3 sous-couches d'inégales épaisseur et réactivité. La couche d est absente (ou réduite à une mince pellicule Patag⁺ au contact du plasmalemme). La couche b est indistincte. La couche a est relativement épaisse et réactive. Le mince périascus transparent est recouvert d'un gélín formé de granules fortement Patag⁺. La couche a, le périascus et son gélín périascal granuleux sont souvent desquamés sur le flanc de l'asque (Pl. IIIB, C).

Au sommet de l'asque (Pl. IIIA; Fig. 2A) la couche c s'amincit sensiblement surtout au niveau de sa sous-couche c3. Sa réactivité est inchangée. Une couche d est développée, relativement mince, un peu plus réactive que la couche c. On n'y distingue pas de sous-couches. La couche a persiste au sommet de l'asque qu'elle coiffe d'une sorte de capuchon, revêtu par le gélín périascal dont les granules sont plus abondants que sur le flanc de l'asque. La déhiscence de l'asque n'a pu être observée.

La paroi des ascospores mûres (Pl. IIIB, C; Fig. 3A). La paroi propre de l'ascospore, dans l'ensemble peu réactive, l'est davantage dans sa partie externe et surtout moyenne; dans sa partie profonde, plus développée et quasi transparente, des zones vésiculeuses dispersées sont très faiblement Patag⁺. La paroi intermédiaire, relativement bien développée, a une structure trilaminaire classique. La périspore est développée de façon très inéquilatérale. Sa partie moyenne, la plus importante, de texture densément granuleuse, est très fortement Patag⁺. Sa mince partie externe, transparente, contient de fins filaments radiaires réactifs. La périspore interne se réduit à une fine strate transparente.

Le sporoplasme de l'ascospore mûre est riche en glycogène et en mitochondries à crêtes effacées.

L'épiplasme, fragile, est précocement dissocié.

- Remarque concernant *P. platensis* (Speg.) Rifai.

Un échantillon de *Plectania platensis* (Speg.) Rifai (ad quisquilia Eucalypti Lisbonne, fév. 1909, Herbier Boudier, Muséum, Paris, as *Urnula torrendi* Boud., det. Nannfeldt, 1948) (cf. Le Gal 1947), nous a montré une ultrastructure ascale analogue à celle de *P. melastoma*. On note seulement un plus fort amincissement de la couche c à l'apex de l'asque et une épaisseur notable de la périspore interne des ascospores dont la limite externe de la paroi propre est onduleuse. L'existence d'une zone plus claire, annulaire, dans la couche d, indiquée par Van Brummelen (1978, 1981 fig. 23, Rz) (as *Urnula platensis*), n'a pas été retrouvée. Puisque *P. platensis* a des asques similaires de ceux de *P. melastoma*, espèce type du genre *Plectania*, le type d'asque dénommé "*Urnula*" par Van Brummelen (1978: 120) peut désormais être appelé type "*Plectania*".

- Discussion.

La structure de la paroi ascale d' *U. helvelloides* et de *P. melastoma* est similaire: la couche d est absente, ou quasi absente, et la couche c est subdivisée en 3 sous-couches. Chez ces deux espèces l'apex de l'asque est construit sur le même plan structural, avec amincissement de la couche c (en particulier de c3) et épaissement modéré de d. Mais les asques de *P. helvelloides* ont de nettes différenciations Patag⁺, aussi bien dans la couche c que dans la couche d où elles se limitent à une sous-couche externe, d1; de plus ils n'ont pas de gélif apical réactif alors que celui-ci est assez important chez *P. melastoma*.

La structure d'ensemble de la paroi ascospore est du même type chez les deux espèces mais, dans le détail, les différences sont notables. Ainsi, chez *P. helvelloides* la paroi est plus mince. La périspore est réduite, la différenciation des sous-couches de la paroi propre beaucoup plus accusée.

Le sporoplasme est riche en lipides chez *P. helvelloides* alors qu'il est riche en glycogène chez *P. melastoma*.

En conclusion, bien que les deux espèces aient des asques et des ascospores de types similaires, elles diffèrent cependant de façon suffisante dans le détail pour que l'appartenance de *P. helvelloides* au genre *Plectania* puisse être discutée. Une comparaison avec le genre *Urnula* s'impose donc.

2) Comparaison avec les asques d'*Urnula craterium* (Schw.) Fr., espèce type du genre *Urnula* Fr. (Pl. IV; Fig. 2B, 3B).

- Références.

Les asques de cette espèce ont été étudiés au microscope électronique par Samuelson (1975).

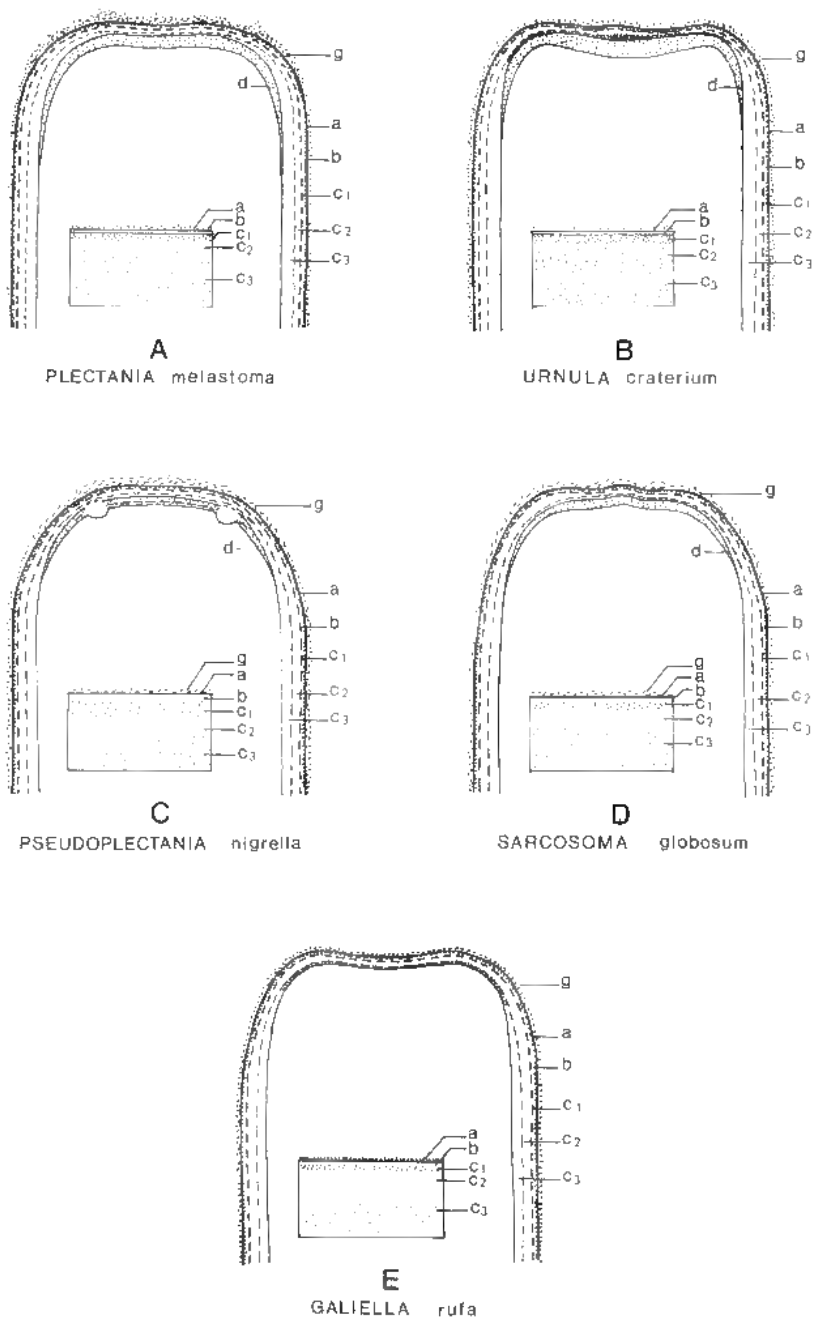


Fig. 2. - Paroi de l'asque et apex de l'asque (schémas). - A: *Plectania melastoma*. - B: *Urnula craterium*. - C: *Pseudoplectania nigrella*. - D: *Sarcosoma globosum* (jeune asque). - E: *Galiella rufa*.

Fig. 2 - Ascus wall and ascus apex. - A: *Plectania melastoma*. - B: *Urnula craterium*. - C: *Pseudoplectania nigrella*. - D: *Sarcosoma globosum* (young ascus). - E: *Galiella rufa*.

- *Observations.*

Dans la **paroi du flanc de l'asque** (Pl. IVD) la couche d, bien réactive au test de Thiéry, n'est pas distincte du plasmalemme. La couche c, qui forme l'essentiel de la paroi (Samuelson, 1975, fig. 37, INT) comporte 3 sous-couches. La plus interne c3, assez réactive, est la plus épaisse; la sous-couche médiane, c2, est mince et transparente; c1, externe, est très mince mais assez fortement réactive. En dehors du sommet de l'asque la paroi est souvent clivée longitudinalement au niveau de c2 et la partie de la paroi qui est externe à celle-ci est desquamée. Ce n'est que vers le haut de l'asque que l'on observe la couche b, claire, assez bien individualisée, et la couche a, mince et réactive, qui est recouverte d'un périascus comportant un peu de gélins granuleux et réactif (Pl. IVA).

Le sommet de l'asque (Pl. IVA), assez plan et un peu déprimé (Samuelson, 1975, fig. 36, 37), est légèrement mamelonné en son centre. La paroi ascale y est très légèrement amincie. Une couche d est développée; elle s'épaissit progressivement jusqu'à l'apex où elle reste cependant peu importante. Elle est homogène et assez peu réactive (Samuelson, 1975, fig. 36 à 38, IL). Dans la couche c, la sous-couche c3 s'amincit brusquement à l'extrême sommet de l'asque et devient alors plus réactive; c2 s'épaissit un peu; c1 et b sont inchangées. A l'extérieur de la couche a, des dépôts de gélins périascal réactif, de dimensions diverses, sont présents çà et là.

Au moment de la **déhiscence** (Pl. IVB, C) l'opercule se sépare par effacement de la paroi au niveau d'une étroite zone de déhiscence. Celle-ci se forme probablement au-dessus d'une couronne de granules lipidiques (observée aussi par Samuelson, 1975, fig. 38) qui occupe le sommet largement vacuolisé de l'épipleme (Pl. IVA).

La paroi des ascospores (Pl. IVD; Fig. 3B) est constituée essentiellement par la paroi propre. Celle-ci, d'épaisseur irrégulière, peu réactive, a une fine texture de fond et renferme de nombreux grains Patag⁺, de taille et de réactivité diverses, dont la disposition est quelconque. La mince paroi intermédiaire, à partie médiane plus claire, est directement recouverte d'une limitante externe: il n'y a pas de périspore.

Les paraphyses, larges et septées, baignent dans un gélins hyménial Patag⁺ (Pl. IVA).

- *Discussion.*

Chez *U. craterium* le plan structural de la paroi latérale et celui de l'apex de l'asque sont du même type que chez *P. melastoma* et *U. helvelloides*. Il y a, ici aussi, amincissement de la paroi à l'apex de l'asque car le développement de la couche d est moins important que la forte réduction de la couche c. Le sommet des asques d' *U. craterium* se distingue de celui d' *U. helvelloides* par l'absence de différenciations dans les couches c et d de la paroi. Il ressemble à celui de *P. melastoma* par l'homogénéité de

la couche d, la tendance à la desquamation d'une partie de la paroi et l'absence d'un gélum externe; il n'en diffère guère que par la présence de lipides sous-apicaux et une plus forte réactivité de la base de la couche c. En somme, *Urnula* et *Plectania* sont plus proches l'un de l'autre, par l'apex de leurs asques, qu' *Urnula helvelloides* ne l'est de chacun d'eux.

La paroi ascosporelle d' *U. craterium*, bien que construite sur le même plan que celle de *P. melastoma* et *P. helvelloides*, diffère cependant nettement de celle de ces deux espèces par l'absence de périspore et la différenciation particulière de la paroi propre. Ces trois espèces sont donc bien distinctes par leurs ascospores.

En fin de compte, par l'apex de ses asques et la structure de sa paroi ascosporelle *U. helvelloides* n'est pas véritablement un *Urnula* ni un *Plectania*. Il convient donc de comparer ses asques à ceux des genres proches de ces derniers.

Comparaison avec les asques d'autres genres voisins.

Les genres *Urnula* et *Plectania* sont placés dans la famille des Sarcosomataceae Kob. 1937 (Eriksson & Hawksworth, 1988; Hawksworth & David, 1989). Korf (1970, 1973) a élevé la famille des Sarcosomataceae Kob. au rang de sous-ordre (Sarcoscyphineae) et l'a subdivisée en 2 familles: les Sarcoscyphaceae, à apothécies claires et cellules des paraphyses uninucléées, avec 2 tribus (Sarcoscypheae et Boedijnopezizae) et les Sarcosomataceae (sensu Korf = sensu stricto) à apothécies sombres et cellules des paraphyses plurinucléées, avec également 2 tribus, les Sarcosomatae (avec *Sarcosoma*, *Plectania*, *Pseudoplectania*, *Chorioactis*, *Desmazierella*) et les Galiellae (avec *Galiella*, *Nannfeldtiella*, *Wolfina* et *Neourmula*).

Une étude ultrastructurale des asques des genres de la première de ces deux tribus, qu'il convient d'examiner d'abord, nous a montré que ceux des genres *Chorioactis* et *Desmazierella* différaient nettement de ceux des *Urnula* et des *Plectania*; elle fait l'objet de publications séparées (Bellemère & Meléndez-Howell, en préparation). On examinera donc ici les seuls genres *Pseudoplectania* (parfois considéré comme synonyme de *Plectania*; Korf, 1972; Paden, 1983; Korf & Zhuang, 1985), *Sarcosoma* et *Galiella* car, faute de matériel disponible, les autres genres mentionnés ci-dessus n'ont pu être étudiés.

1) Comparaison avec les asques de *Pseudoplectania nigrella* (Pers.) Fuck., espèce type du genre *Pseudoplectania* Fuck. (Pl. V; Fig. 2C, 3C).

- Références.

Ces asques ont été étudiés en microscopie électronique par Samuelson (1975) et Van Brummelen (1978, 1981).

- *Observations.*

La paroi latérale de l'asque (Pl. VA, B, C) est formée, pour l'essentiel, par la couche c dans laquelle les sous-couches constitutives se distinguent difficilement. C'est probablement la sous-couche médiane, c2, claire, qui est la plus développée. Il n'y a pas vraiment de couche d distincte du plasmalemme qui est bien réactif.

Au sommet de l'asque, légèrement arrondi (Samuelson, 1975, fig. 42; Van Brummelen, 1978, fig. 28), la paroi n'est pas épaissie (Pl. VA), bien qu'une couche d soit présente (Samuelson, 1975, fig. 42, 43, 46 II), car la couche c est amincie. La couche d, initialement de texture lamellaire (Pl. VB) est subdivisée en 2 sous-couches dont le contenu n'est que faiblement réactif, la sous-couche d1 étant plus nettement Patag⁺. Dans la couche c, la sous-couche c3 est la plus réactive. La couche b est indistincte. La couche a, Patag⁺, est revêtue d'un gélif périascal (Van Brummelen, 1978, fig. 28, P) formé de très nombreuses fibrilles un peu onduleuses, orthogonales à la paroi.

Une **zone de déhiscence** se constitue au niveau d'une étroite indentation de la face interne de la paroi (Pl. VA) qui surplombe une couronne de globules lipidiques épiplasmiques périapicaux. A ce niveau, la partie profonde de la paroi perd sa réactivité, gonfle et vient faire saillie dans le sommet de l'épiplasma (Pl. VB, C). L'opercule, étroit, a été vu plus mince que ne l'a figuré Van Brummelen (1978, fig. 2B).

La paroi des ascospores (Pl. VC à E; Fig. 3C) ne comporte pas de périspore. La paroi propre est subdivisée en sous-couches pp1, pp2, pp3, remarquablement différenciées, dans lesquelles une disposition radiaire est manifeste (Pl. VD). Dans les ascospores mûres, une mince endospore claire, grossièrement granuleuse, est interposée entre la paroi propre et le plasmalemme. La paroi propre de l'ascospore est recouverte par la paroi intermédiaire et la limitante externe d'aspect classique. Dans le sporoplasme riche en lipides (Pl. VD), les vacuoles ont un contenu en partie réactif, de texture très fine. Au moins 3 noyaux ont pu être observés dans les ascospores. Celles-ci présentent probablement une zone de fragilité plus ou moins équatoriale car, à ce niveau, leur paroi se sépare fréquemment en 2 valves subégales sans qu'une différenciation spéciale ait été observée à l'endroit de la rupture.

Les paraphyses, à paroi mince et réactive et à surface finement granuleuse, ont un très long article terminal un peu renflé en massue. Le plus souvent leurs cellules sont vidées de leur contenu.

- *Discussion.*

Les asques de *P. nigrella* sont du même type structural que ceux de *U. helvelloides*, *P. mclastoma* et *U. craterium*. Ils diffèrent de ces deux derniers par la présence de 2 sous-couches dans la couche d de la paroi ascale et par

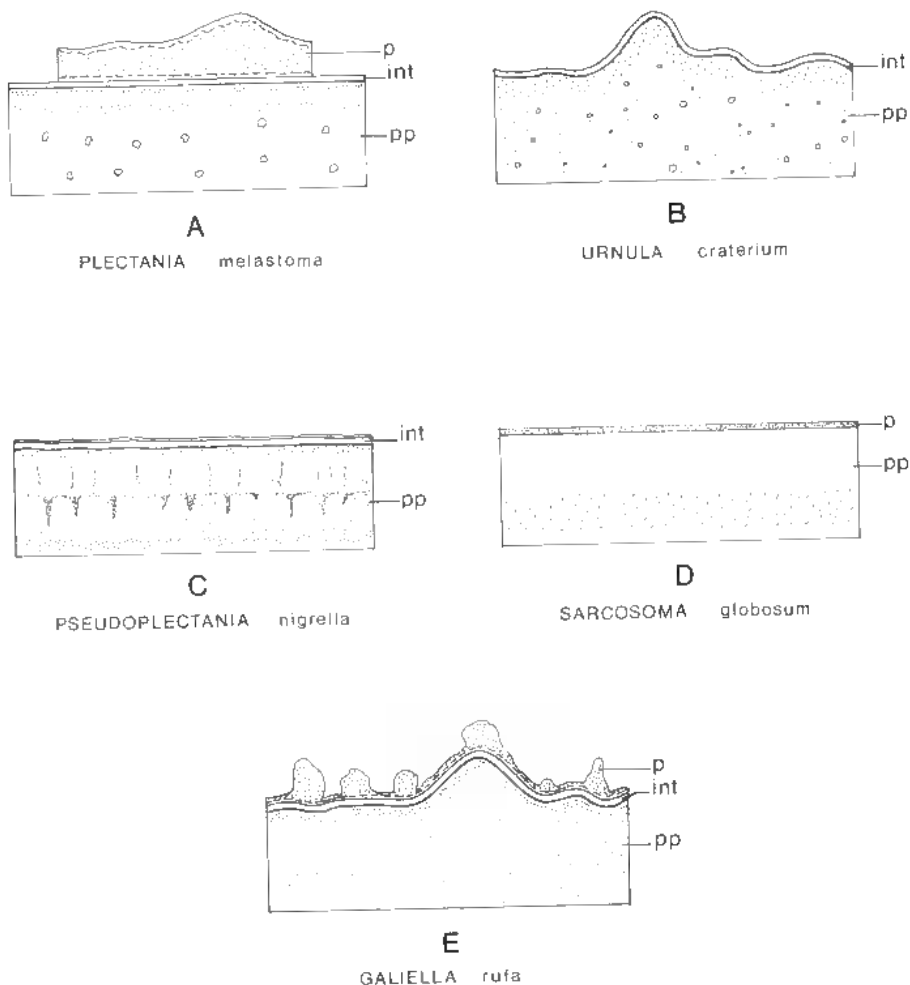


Fig. 3 - Paroi d'ascospore (schémas). - A: *Plectania melastoma*. - B: *Urnula craterium*. C: *Pseudoplectania nigrella*. - D: *Sarcosoma globosum* (jeune ascospore). - E: *Galiella rufa*.

Fig. 3 - Ascospore wall. - A: *Plectania melastoma*. - B: *Urnula craterium*. C: *Pseudoplectania nigrella*. - D: *Sarcosoma globosum* (young ascospore). - E: *Galiella rufa*.

la structure fine de la paroi ascosporale (périspore chez *Plectania*, paroi propre moins différenciée chez *Urnula*). Ils ont plusieurs caractères en commun avec ceux de *P. helvelloides*: différenciation Patag⁺ dans la couche c de la paroi ascale, subdivision de la couche d avec réactivité un peu plus impor-

tante de la sous-couche d1, opercule étroit, paroi propre de l'ascospore très différenciée. De ce fait, par l'ultrastructure de ses asques, *U. helvelloides* paraît plus proche du genre *Pseudoplectania* que des genres *Plectania* et *Urnula*. Cependant l'apex des asques de *U. helvelloides* diffère de celui des asques de *Plectania* par la différenciation importante des couches c et d de la paroi, l'absence de gélin externe et d'une couronne périascale de globules lipidiques épiplasmiques. En outre chez *U. helvelloides* la paroi ascospore est pourvue d'une périspore et il n'y a pas d'endospore.

Donc, par ses asques, *U. helvelloides* ne peut être placé de façon indiscutable dans aucun des trois genres *Plectania*, *Urnula* et *Pseudoplectania*.

2) *Comparaison avec Sarcosoma globosum (Schmid. ex Fr.) Casp. (Pl. VI; Fig. 2D, 3D), espèce type du genre Sarcosoma Casp.*

- *Références.*

Les asques de cette espèce ont été étudiés au microscope électronique par Samuelson et al. (1980).

- *Observations.*

Les apothécies étudiées, bien que de grande taille et à hyménium bien constitué, apparemment adultes, ne renfermaient que des asques où les ascospores n'étaient pas encore mûres.

La paroi de l'asque (Pl. VIA, B), assez épaisse, ne comporte pas de couche d. La couche c est nettement subdivisée en 3 sous-couches; l'interne, c3, est la plus épaisse et c1, l'externe, la plus mince; toutes les deux sont un peu réactives alors que c2, assez bien développée, est transparente.

A l'apex de l'asque, où la paroi est faiblement amincie, une fine couche d se développe; assez réactive, elle est bien distincte (couche 1L de Samuelson et al., 1980: 1239). A ce niveau la couche c (couche 1S de Samuelson et al., 1980: 1239) devient plus mince bien que c2 et c1 conservent à peu près leur épaisseur. Elle n'est pas subdivisée en 2 sous-couches. Le sommet de l'asque, assez plat, est légèrement mucroné dans sa partie axiale; il est recouvert d'une mince couche de gélin périascas (couche ES de Samuelson et al., 1980: 1239), un peu réactive, de texture assez grossière. L'épiplasma de l'asque jeune contient des plages granuleuses fortement Patag⁺ (Pl. VIA, B) correspondant probablement à du glycogène. L'étude de Samuelson et al. (1980) montre que l'opercule est mince (fig. 23) et signale l'existence d'une zone de déhiscence annulaire.

La paroi des ascospores en début de maturation est déjà épaisse, mais elle n'est que très faiblement différenciée. Sous la périspore, très mince et peu réactive, la paroi intermédiaire n'est pas distincte. La paroi propre, qui constitue l'essentiel de la paroi, est assez transparente; sa partie profonde a un aspect un peu plus gris. D'après l'étude de Samuelson et al. (1980, fig. 20 et 24) il semble que la paroi des ascospores mûres a une structure analogue

à celle des ascospores de *U. helvelloides* (Pl. IIB). Cette paroi est un peu moins différenciée que dans cette espèce et la périspore y est peut-être un peu plus réduite.

Les paraphyses cylindriques, assez larges, ont une paroi relativement mince, dont la surface finement irrégulière est réactive. Les articles terminaux sont allongés.

- *Discussion.*

Les asques du genre *Sarcosoma* appartiennent au même type structural que ceux d' *U. helvelloides* et des genres *Plectania*, *Urnula* et *Pseudoplectania* qui se caractérise par le développement d'une couche d dans la paroi apicale de l'asque, celle-ci étant cependant moins épaisse que la paroi latérale en raison de l'important amincissement de la couche c à ce niveau. Les asques de l' *U. helvelloides* se distinguent cependant de ceux du genre *Sarcosoma* car, chez ce dernier, comme chez les genres *Plectania* et *Urnula*, la partie apicale de la couche d n'est pas subdivisée en 2 sous-couches et ne présente pas de différenciations réactives alors que c'est le cas chez *U. helvelloides* et chez *Pseudoplectania*. De plus il n'y a pas de gélén périascal à l'apex des asques de *U. helvelloides* contrairement au cas de *Sarcosoma*. Par suite *U. helvelloides* ne peut être placé dans le genre *Sarcosoma*, même si la structure des ascospores est similaire de celle de ce dernier genre.

3) Comparaison avec *Galiella rufa* (Schw.) Nannf. et Korf (Pl. VII, VIII; Fig. 2E, 3E), espèce type du genre *Galiella* Nannf. et Korf.

- *Références.*

Les asques de cette espèce ont été étudiés au microscope électronique par Samuelson et al. (1980).

- *Observations.*

La paroi de l'asque (Pl. VIIA) relativement épaisse, ne comporte pas de couche d. Elle est formée essentiellement par la couche c, assez réactive, dans laquelle on peut distinguer 3 sous-couches (c1, externe, mince, un peu plus réactive; c2, médiane, un peu plus claire; c3, interne, légèrement plus réactive que c2). La présence d'une couche b, très mince et transparente, est confirmée par la fréquente desquamation de la paroi observée à son niveau. La couche a, mince et fortement réactive, est couverte d'une fine couche de périascus dont le gélén est formé de courtes fibrilles réactives, orthogonales à la paroi.

Au sommet de l'asque, où la paroi est très amincie (Pl. VIIA), toutes les sous-couches de la couche c ont une épaisseur réduite. La réactivité de la sous-couche c3 augmente. Il n'y a pas de développement d'une couche d. La couche b est indistincte. La couche a, recouverte de gélén périascal, est inchangée.

La zone de déhiscence operculaire semble sans particularités (Pl. VIIB) alors qu'au niveau de sa charnière, juste au-dessous de l'amincissement de la paroi ascale, la sous-couche c3 de la paroi est légèrement épaissie et présente une étroite différenciation d'aspect clair (Samuelson et al., 1980: 1240).

La paroi des ascospores (Pl. VIIIA; Fig. 3E) comporte une périspore d'épaisseur irrégulière, un peu réactive au test de Thiéry et de texture très finement granuleuse, avec, peut-être, une étroite partie interne surmontant une très mince paroi intermédiaire. Sous la périspore, la paroi propre constitue l'essentiel de la paroi; elle est différenciée en 3 sous-couches inégalement réactives, la plus externe étant la plus opaque aux électrons et la sous-couche moyenne, la plus transparente (Pl. VIIIA). Dans certaines spores, sans doute plus mûres, la paroi propre se charge de nombreux petits granules fortement Patag⁺; ils sont plus abondants dans les sous-couches moyenne et interne de la paroi propre (Pl. VIIB). Le sporoplasme contient quelques éléments lipidiques.

Les paraphyses assez épaisses, cylindriques, septées, ont une paroi mince, dont la partie interne est bien réactive au test de Thiéry. La gelée hyméniale qui les entoure, assez abondante, est faiblement Patag⁺.

- Discussion.

La présente interprétation considère que la partie interne de la paroi apicale des asques de *G. rufa* est formée par la sous-couche c3 et non par la couche d comme c'est le cas chez *S. globosum*. Cette interprétation diffère donc de celle de Samuelson et al. (1980, fig. 8 et 9). Selon ces auteurs, en effet, cette partie interne est de même nature chez ces deux espèces où elle est également qualifiée d'inner layer (IL). Cette opinion ne nous paraît pas en accord avec les faits. Les asques du genre *Galiella* n'ont pas le même type structural que ceux qui ont été examinés plus avant dans ce travail. Certes, leur paroi est amincie au sommet de l'asque, mais il n'y a pas de développement d'une couche d, celle-ci étant absente sur l'ensemble de l'asque. Par suite, *U. helvelloides* ne peut être placé dans le genre *Galiella*.

En conclusion, il résulte de ce qui a été dit précédemment que les caractéristiques ultrastructurales des asques et des ascospores de l'*U. helvelloides* ne permettent pas de l'inclure dans un des genres *Plectania*, *Urnula*, *Pseudoplectania*, *Sarcosoma* et *Galiella*. Les données bibliographiques (Korf, 1973) montrent de plus, que pour diverses raisons, l'*U. helvelloides* ne peut être non plus placé dans les genres des Sarcosomatae et des Galiellae que nous n'avons pu étudier. Ainsi il se distingue de *Wolfina* (*W. aurantiopsis*) dont les ascospores sont, elles aussi, cyanophiles mais dont les ornements sont longitudinaux. Il se sépare de *Neourmula* (*N. poucheti*), lui aussi saprophyte sur litière de conifère, mais dont les ascomas sont différents par leur couleux gris ocracé, leur aspect plus ou moins feutré et ridulé, leur marge fimbriée et le stipe creux, s'ouvrant dans la base de la cupule. Enfin *Korfiella* (*K. karmika*) a des spores non verruculeuses et des

ascomas de forme auriculaire. Il convient donc de ranger *Urnula helvelloides* Donadini, Berthet et Astier dans un genre nouveau, le genre *Donadinia*, proposé en hommage au brillant spécialiste des Pézizales, récemment disparu.

DONADINIA Bellemère et Meléndez-Howell gen. nov.

Apotheciae lignicolae, in ligno mortuo caduco enascentes, pedunculatae, cupulares, gregariae; cupula hemisphaerica, marginata. Stipes plenus. Asci octospori, cylindrici, base flexuosi. Endotunica in apice solum adest, natura heteroclita. Ectotunica in apice angustata, natura heteroclita. Apertio operculata haud suboperculata. Sporae pariete propria dispari, ac perispora verrucis parvis cyanophilisque ornatu, et intus parvis guttulis repletae. Ascogonae hyphae non filulatae. Paraphyses lineares, apice saepe furcatae ac nodosae.

Species typica, D. helvelloides (Donadini, Berthet et Astier) Bellemère et Meléndez-Howell.

Rapports entre les asques du genre *Donadinia* et ceux des autres Sarcosomataceae. Conséquences systématiques.

1) Rappel historique.

Des études en microscopie photonique postérieures à la définition de la famille des Sarcosomataceae, sensu Kobayasi (1973), ont mis en évidence, chez certains genres de celle-ci, l'existence d'asques à paroi épaissie au sommet donc différents du type operculé. Le Gal (1946a) a, par la suite, défini chez *Cookeina sulcipes* un type d'asque "suboperculé", terme qui a prévalu sur celui de "paraoperculé" défini simultanément par Chadeaud (1946) chez *Sarcoscypha coccinea*. Des asques suboperculés ont été reconnus chez plusieurs autres Sarcosomataceae (*Sarcosoma*, *Urnula*, *Pseudoplectania*, *Pithya*, *Wynnea*) (Le Gal, 1946b). Par la suite les auteurs ont considéré que tous les représentants de cette famille avaient des asques suboperculés.

Cependant les études ultrastructurales de Samuelson (1975) ont confirmé, d'une part, la validité du type d'asque suboperculé sensu Le Gal (différent structuralement des asques inoperculés mais proche du type operculé) et, d'autre part, sa présence chez plusieurs genres de Sarcosomataceae sensu Kobayasi (*Sarcoscypha*, *Wynnea*, *Phillipsia*, *Cookeina*). Mais, par contre, ces études ont montré que chez certains autres genres de cette famille (*Urnula*, *Pseudoplectania*) l'interprétation de l'apex des asques par Le Gal était erronée et que la paroi était amincie au sommet de ceux-ci (le "coussinet" de Le Gal n'étant pas un constituant pariétal). Samuelson (1975) mettait donc en évidence l'hétérogénéité de la famille des Sarcosomataceae, confirmée un peu plus tard par Van Brummelen (1978). Cependant Samuelson n'a pas subdivisé cette famille. Au contraire, il a voulu en conserver l'intégrité en modifiant la définition des asques suboperculés qu'il caractérise désormais par la présence d'un sous-opercule = "suboperculum": "area in the ascus wall immediately below the line of

dehiscence in which transitions in wall layers are notable". Cette définition étant relativement peu précise, Samuelson lui-même n'a pas toujours délimité nettement le sous-opercule sur ses clichés et l'utilisation de ce terme a été contestée (Van Brummelen, 1986). De plus, la présence d'un sous-opercule plus ou moins développé a été retrouvée chez des Pézizales indubitables (Samuelson, 1978a, b, c, d; Kimbrough & Benny, 1978) et des auteurs ont envisagé que certaines Sarcoscyphaceae aient des asques typiquement operculés (Bellemère, 1977; Donadini, 1987a). Finalement, Samuelson et al. (1980) ont considéré que chez une partie des Sarcosomataceae (*Sarcosoma*, *Urnula*, *Plectania*, *Galiella*) l'appareil apical des asques était du même type que celui des Pézizales et que le terme d'asque suboperculé ne devait s'appliquer qu'aux taxa qui possèdent à la fois un sous-opercule et un appareil apical bien développé. Des études ultrastructurales récentes concernant les genres *Pseudopythiella* (Donadini et al., 1989) et *Pythia* (Meléndez-Howell et al., 1990), ainsi que le présent travail permettent d'apporter des précisions relativement aux caractéristiques des asques suboperculés.

2) Caractéristiques des asques suboperculés.

On peut considérer que l'apex des asques suboperculés possède simultanément les caractéristiques suivantes:

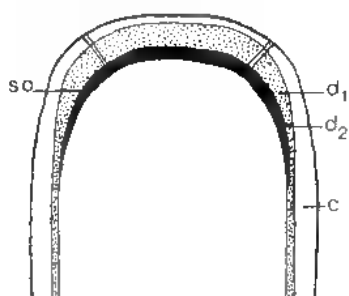
- la couche d de la paroi y est notablement épaissie.
- la couche d de la paroi y est subdivisée en 2 sous-couches, d1 externe et d2 interne; celle-ci est d'ordinaire plus nettement différenciée, formant une sorte de coupole apicale.
- la différenciation de la sous-couche d2 se prolonge latéralement au-delà des limites de l'opercule.
- après déhiscence, la partie latérale différenciée de la sous-couche d2 persiste au-dessous de l'ascostoma en une sorte de cheminée dont la structure est différenciée par rapport à la paroi de l'asque et que l'on peut qualifier de sous-opercule (= subopercule).

3) Les divers types d'asques dans la famille des Sarcosomataceae s. lato (Fig. 4)

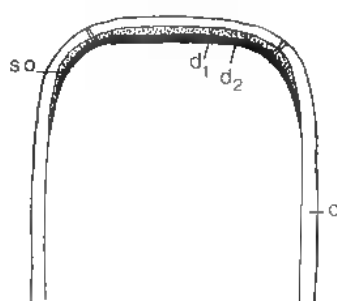
Seuls quelques genres de la famille des Sarcosomataceae s.l. ont des asques typiquement suboperculés.

- Les genres à asques suboperculés.

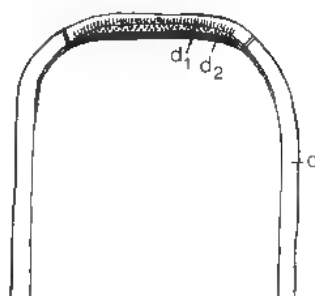
Le genre *Sarcoscypha* est le plus typique. Le genre *Pseudopythiella* a des asques plus spécialisés avec un épaulement sous-apical (Donadini et al., 1989). Les asques du genre *Pythia* est une variante à sous-opercule court (Meléndez-Howell et al., 1990). L'apex des genres *Wynnea*, *Phillipsia* et



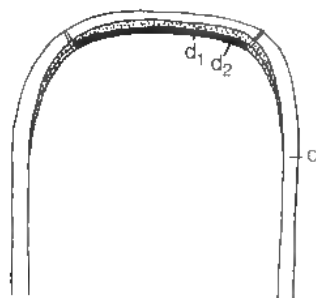
A



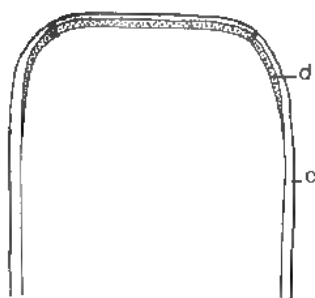
B



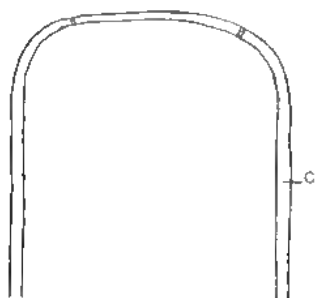
C



D



E



F

Cookeina est une variante excentrique (Samuelson, 1975; Samuelson et al., 1980).

- Les genres à asques non operculés. Ils se répartissent en 3 groupes:

I - Dans le genre *Galiella* il n'y a pas de développement de la couche d dans l'asque. Celui-ci est donc operculé.

II - Dans les genres *Sarcosoma*, *Plectania* et *Urnula* la couche d de la paroi n'est véritablement présente qu'au sommet de l'asque où elle est assez épaisse mais n'est pas subdivisée en deux sous-couches et ne présente pas de différenciation particulière. Après déhiscence il n'y a pas individualisation

Fig. 4 - Comparaison de la structure du sommet des asques chez des Sarcoscyphaceae et des Sarcosomataceae (schémas). - A: Apex d'asque typiquement suboperculé chez *Sarcoscypha* avec couche d épaissie à l'apex et subdivisée en deux sous-couches d1 et d2, avec aussi présence d'un sous-opercule bien développé (différenciation périoperculaire de d2). - B: Apex d'asque suboperculé de *Pithya* à couche d faiblement épaissie à l'apex, subdivisée en d1 et d2, et avec présence d'un sous-opercule réduit (différenciation périoperculaire de d2). - C: Apex d'asque de *Donadinia* à couche d faiblement épaissie à l'apex, subdivisée en d1 et d2 mais sans sous-opercule, (pas de différenciation périoperculaire de d2). Il y a une différenciation de la partie interne de c dans l'opercule. - D: Apex d'asque operculé de *Pseudoplectania*, analogue aux asques de *Donadinia* mais sans différenciation apicale dans la couche c de la paroi. - E: Apex d'asque operculé de *Sarcosoma* à couche d faiblement épaissie à l'apex mais non subdivisée en d1 et d2 et sans individualisation de sous-opercule. - F: Apex d'asque operculé de *Galiella* différant de celui de *Sarcosoma* par l'absence complète de couche d à l'apex et sur le flanc de l'asque.

Fig. 4 - Comparison of the ascus apex structure of some Sarcoscyphaceae and Sarcosomataceae. - A: Apex of a typical suboperculate ascus of *Sarcoscypha* with the thickening of the wall d layer at the ascus top, the subdivision of this layer into two sublayers d1 and d2 in the apex and the existence of a well developed suboperculum (periopercular differentiation of the d2 sublayer). - B: Apex of a suboperculate ascus of *Pithya* with a feebly thickened d layer at the apex, subdivided into d1 and d2 sublayers and a reduced suboperculum (periopercular differentiation of the d2 sublayer). - C: Apex of an ascus of *Donadinia* with a feebly thickened d layer at the apex, subdivided into d1 and d2 sublayers but with no suboperculum (no differentiation in the periopercular part of the d2 sublayer). There is a differentiation of the internal part of the c layer in its opercular part. - D: Apex of a suboperculate ascus of *Pseudoplectania* similar to the *Donadinia* ascus but without differentiation of the c layer in its opercular part. - E: Apex of an operculate ascus of *Sarcosoma* with a feebly thickened d layer at the ascus apex but without differentiation into d1 and d2 sublayers; no suboperculum exists. - F: Apex of an operculate ascus of *Galiella* different from *Sarcosoma* ascus apex because it is completely devoided of a d layer in the lateral part and in the apex.

d'un sous-opercule. Ces asques sont, eux aussi, operculés mais d'un type différent de ceux de *Galiella*.

III - Dans les genres *Pseudoplectania* et *Donadinia* la couche d de la paroi n'est aussi présente qu'au sommet de l'asque où elle est assez épaisse et subdivisée en deux sous-couches, avec une faible différenciation à l'intérieur de la sous-couche d1; mais celle-ci ne s'étend pas au-delà des limites de l'opercule et il n'y a donc pas persistance, après déhiscence, d'une partie latérale de la sous-couche d2 en un sous-opercule différencié (= cheminée). Il s'agit d'un type d'asque operculé mais qui est différent des types *Galiella* et *Sarcosoma*. Dans ce type une différenciation apicale peut aussi exister dans la couche c de la paroi; elle est nette chez *D. helvelloides*.

4) Conséquences systématiques de la diversité des asques chez les *Sarcosomataceae*.

Ces conséquences, seulement évoquées ici, seront précisées après l'étude de quelques autres genres de *Sarcosomataceae* (*Chorioactis*, *Desmazierella*, *Rickiella*, *Boedijnopeziza*) (Bellemère & Meléndez-Howell, en préparation).

- En premier lieu, les genres de *Sarcosomataceae* à asques typiquement suboperculés méritent d'être séparés de cette famille et rassemblés dans une famille autonome dont le genre *Sarcoscypha*, aux asques bien caractérisés, pourrait être le type. Il est alors possible de reprendre le nom de *Sarcoscyphaceae* proposé par Le Gal (1946b: 218), du nom d'une tribu de Fries. Il rassemblait, avec *Sarcoscypha*, plusieurs genres de *Sarcosomataceae* sensu Kobayasi et, parmi eux, le genre *Sarcosoma*, genre type de cette dernière famille; c'était donc un synonyme postérieur de *Sarcosomataceae* (Hawksworth et al., 1983; Eriksson, 1984). Le terme de *Sarcoscyphaceae* était invalide, à l'origine, faute de diagnose latine; celle-ci a été fournie par Eckblad (1968). Elle doit être amendée du terme "asques suboperculés" (asci suboperculati) qui n'y figure pas.

Il n'y a pas lieu de placer les *Sarcoscyphaceae* Le Gal ex Eckblad dans un ordre séparé (*Sarcoscyphales*) car le plan structural des asques est fondamentalement le même que celui de certaines Pézizales dans lesquelles une couche d est épaissie à l'apex de l'asque. Chez les *Sarcoscyphaceae* cet épaississement est seulement plus développé et plus différencié; des transitions existent avec les Pézizales typiques (*Pithya*, Meléndez-Howell et al., 1990).

- Les genres *Sarcosoma*, *Plectania* et *Urnula* ayant des asques du même type doivent être nécessairement conservés dans la famille des *Sarcosomataceae* s. stricto dont la définition doit être amendée dans un sens plus restrictif (asques operculés, non suboperculés) (asci operculati, non suboperculati). L'ultrastructure des asques de cette famille, ainsi réduite, est proche de celle des asques du genre *Fimaria*, étudiés récemment par Van

Brummelen (1986), et dont le type d'asque, selon cet auteur, est celui des Pyrenomataceae qui est fréquent chez les Pézizales.

- Les genres *Pseudoplectania* et *Donadinia* ont des asques non suboperculés dont la structure d'ensemble est proche de ceux des Sarcosomataceae s.s., mais ils sont plus nettement différenciés à l'apex et ont un opercule étroit. On doit donc les séparer des Sarcoscyphaceae. On peut les maintenir dans les Sarcosomataceae, au moins provisoirement, mais il faut alors les placer dans une tribu séparée (*Pseudoplectaniae*).

- Le genre *Galiella* dont les asques sont dépourvus de couche d ne peut être placé ni dans les Sarcoscyphaceae, ni dans les Sarcosomataceae s.s. Sa position systématique reste à préciser.

En conclusion l'étude ultrastructurale des asques du *Donadinia helvelloides* destinée à l'origine à une comparaison avec celle des asques des genres *Urnula* et *Plectania* a conduit à étendre les recherches à d'autres genres placés initialement dans la famille des Sarcosomataceae s. lato. L'hétérogénéité de celle-ci, en ce qui concerne les asques, a pu être confirmée et on peut en conclure que plusieurs voies de diversification peuvent être reconnues chez les asques operculés.

L'étude des ascospores des Sarcosomataceae s. lato confirme l'existence d'un schéma structural unique de la paroi chez ses représentants mais avec une importante diversification de détail. Celle-ci est relativement indépendante de l'ultrastructure des asques. Ainsi un type ascosporal à périspore développée et paroi propre bien différenciée semble se rencontrer aussi bien chez *Sarcoscypha*, chez *Sarcosoma*, chez *Donadinia* ou chez *Pseudoplectania* (avec ici une endospore). Un type ascosporal à paroi propre peu différenciée, mais se chargeant de granules, existe aussi bien chez *Urnula* que chez *Galiella* (où une périspore est présente). La paroi propre des ascospores de *Plectania* rappelle celle de *Pithya* et de *Pseudopithyella* avec, cependant, une périspore beaucoup plus abondante. Il semble que les ascospores renseignent mieux sur une adaptation récente aux conditions du milieu que ne le fait l'ultrastructure des asques, plus conservatrice des structures anciennes. A l'occasion de l'étude ultrastructurale des asques d'autres genres actuellement classés dans les Sarcosomataceae sensu lato (Bellemère & Meléndez-Howell, en préparation) nous espérons apporter des précisions et des compléments à ce sujet.

REMERCIEMENTS

Nous remercions la Direction de l'Ecole Normale Supérieure de Fontenay Saint-Cloud d'avoir bien voulu faciliter la réalisation de ce travail ainsi que Monsieur H. Romagnesi pour l'aimable rédaction d'une diagnose latine. L'assistance technique de T. Casses pour les dessins et de E. Vast et M. Letalnet pour les photographies a été aussi très appréciée.

BIBLIOGRAPHIE

- BELLEMÈRE A. et MELENDEZ-HOWELL L.M., 1976 - Etude ultrastructurale comparée de l'ornementation externe de la paroi des ascospores de deux Pézizales: *Peziza fortini* n. sp., récoltée au Mexique, et *Aleuria aurantia* (Oed. ex Fr.) Fuck. *Rev. Mycol. (Paris)* 40: 3-19.
- BELLEMÈRE A., 1977 - L'appareil apical de l'asque chez quelques Discomycètes: étude ultrastructurale comparative. *Rev. Mycol. (Paris)* 41: 233-264.
- BELLEMÈRE A., MELENDEZ-HOWELL L.M., NICOLAS A. et ROSSIGNOL J.L., 1981 - Etude ultrastructurale comparative du développement des ascospores chez la lignée sauvage et chez les mutants à ascospores "ceinturés" ou "albinos" de l' *Ascobolus immersus* Pers. ex Fr. *Cryptogamie, Mycol.* 2: 299-359.
- BELLEMÈRE A. et HAFELLNER J., 1982 - L'ultrastructure de l'appareil apical des asques et des ascospores du *Catolochia wahlenbergii* (Ach.) Flotow ex Koerber et de l' *Epilichen scabrosus* (Ach.) Clem. ex Haf. (Lichens, Lécnorales). *Cryptogamie, Bryol. Lichénol.* 4: 1-36.
- Van BRUMMELEN J., 1978 - The operculate ascus and allied forms. *Persoonia* 10: 113-128.
- Van BRUMMELEN J., 1981 - The operculate ascus and allied forms. In: D.R. REYNOLDS, *Ascomycete Systematics, the Luttrellian concept*. New York, Heidelberg, Springer éd. III: 27-48.
- Van BRUMMELEN J., 1986 - Ultrastructure of the ascus top and the ascospore wall in *Fimaria* and *Pseudombrophila* (Pézizales, Ascomycotina). *Persoonia* 13: 213-230.
- CHADEFAUD M., 1946 - Les asques para-operculés et la position systématique de la Pézize *Sarcoscypha coccinea* Fries ex Jacquin. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci., sér. III*, 222: 753-755.
- DONADINI J.C., BERTHET P. et ASTIER J., 1973 - Un *Urnula* nouveau: *U. helvelloides* (Discomycètes inoperculés). *Bull. Soc. Linn. Lyon* 42: 37-40.
- DONADINI J.C., 1987a (1986) - Discomycètes (I): Macro et microphotos en microscopie électronique à balayage (M.E.B.). De la recherche à la vulgarisation. *Bull. Soc. Linn. Provence* 38: 149-160.
- DONADINI J.C., 1987b - Etude des Sarcoscyphaceae ss. Le Gal, Sarcosomataceae et Sarcoscyphaceae ss. Korf. Le genre *Pseudoplectania* emend. nov., *P. ericaceae* sp. nov. (Pézizales). Cytologie et scanning des asques. *Mycol. Helvet.* 2: 217-246.
- DONADINI J.C., CHACUN H., MALHERBE M.C. et BELLEMÈRE A., 1989 - L'ultrastructure des asques et ascospores du *Pseudopithyella minuscula* (Ascomycètes, Pézizales, Sarcosomataceae). *Cryptogamie, Mycol.* 10: 283-304.
- ECKBLAD F.E., 1968 - The genera of operculate Discomycetes. A Re-evaluation of their taxonomy, phylogeny and nomenclature. *Nytt. Mag. Bot.* 15: 1-191.
- ERIKSSON O., 1984 - Outline of Ascomycetes - 1984. *Systema Ascomycetum* 3: 1-72.
- ERIKSSON O. and HAWKSWORTH D.L., 1988 - Outline of the Ascomycetes - 1988. *Systema Ascomycetum* 7: 119-315.

- HAWKSWORTH D.L., SUTTON B.C. and AINSWORTH G.C., 1983 - *Ainsworth and Bishy's Dictionary of the Fungi*. 7ed. Kew, Surrey, CMI.
- HAWKSWORTH D.L. and DAVID J.C., 1989 - *Family names. Index of Fungi, Supplement*. Oxon, UK, CAB, International Mycological Institute.
- KIMBROUGH J.W. and BENNY G., 1978 - The fine structure of ascus development in *Lasiobolus monascus* (Pezizales). *Canad. J. Bot.* 56: 862-872.
- KOBAYASI Y., 1937 - On the gelatinous cup fungi, *Bulgaria-* group. *Jap. J. Bot.* 13: 511-520.
- KORF R.P., 1970 - Nomenclatural notes. VII. Family and tribe names in the Sarcoscyphineae (Discomycetes) and a new taxonomic disposition of the genera. *Taxon* 19: 782-786.
- KORF R.P., 1972 - Synoptic key to the genera of the Pezizales. *Mycologia* 64: 937-993.
- KORF R.P., 1973 - Discomycetes and Tuberales. In: AINSWORTH G.C., SPARROW F. and SUSSMAN A.S., *The Fungi*. New York, Acad. Press, IVa: 249-319.
- KORF R.P. and ZHUANG W.Y., 1985 - Some new species and new records of Discomycetes in China. *Mycotaxon* 22: 483-514.
- LE GAL M., 1946a - Mode de déhiscence des asques chez les *Cookeina* et les *Leotia* et ses conséquences du point de vue phylogénétique. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci., sér. III*, 222: 247-265.
- LE GAL M., 1946b - Les Discomycètes suboperculés. *Bull. Soc. Mycol. France* 62: 218-240.
- LE GAL M., 1947 - Recherches sur les ornémentations sporales des Discomycètes operculés. *Ann. Sci. Nat., sér. 2. Bot.*, 8: 73-297.
- MELENDEZ-HOWELL L.M., CHACUN H., MALHERBE M.C. et BELLEMERE A., 1990 - Etude ultrastructurale de l'apex de l'asque et de la paroi des ascospores dans le genre *Pirithya* Fuck. (Ascomycètes, Pézizales, Sarcosomataceae). *Ann. Inst. Mex., Bot.* 60 (sous presse).
- PADEN J.W., 1983 - Sarcosomataceae (Pezizales, Sarcoscyphineae). *Fl. Neotrop.* 37: 1-17.
- SAMUELSON D.A., 1975 - The apical apparatus of the suboperculate ascus. *Canad. J. Bot.* 53: 2660-2679.
- SAMUELSON D.A., 1978a - Asci of the Pezizales. I. The apical apparatus of iodine-positive species. *Canad. J. Bot.* 56: 1860-1875.
- SAMUELSON D.A., 1978b - Asci of the Pezizales. II. The apical apparatus of representatives in the *Otidea-Aleuria* complex. *Canad. J. Bot.* 56: 1876-1904.
- SAMUELSON D.A., 1978c - Asci of the Pezizales. III. The apical apparatus of eugymnohymenial representatives. *Amer. J. Bot.* 65: 748-758.
- SAMUELSON D.A., 1978d - Asci of the Pezizales. VI. The apical apparatus of *Morchella esculenta*, *Helvella crispa* and *Rhizina undulata*. General discussion. *Canad. J. Bot.* 56: 3069-3082.

SAMUELSON D.A., BENNY G.L. and KIMBROUGH J.W., 1980 - Asci of the Pezizales. VII. The apical apparatus of *Galiella rufa* and *Sarcosoma globosum*: re-evaluation of the suboperculate ascus. *Canad. J. Bot.* 58: 1235-1243.

THIERY J.P., 1967 - Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. *J. Microscop.* 6: 987-1018.

ABBREVIATIONS DES LEGENDES DES PLANCHES ET DES FIGURES

a	couche a de la paroi de l'asque	n	noyau
as	asque	op	opercule
b	couche b de la paroi de l'asque	p	périspore
c	couche c de la paroi de l'asque (avec les sous-couches c1,c2,c3)	pa	paroi de l'asque
d	couche d de la paroi de l'asque (avec les sous-couches d1,d2)	par	paraphyse
e	endospore	pas	périaseus
ep	épiplasma	pe	périspore externe
es	espace périplasmique	ph	poil hyménial
fd	fissuration annulaire de la couche c de la paroi de l'asque	pi	périspore interne de la paroi de l'ascospore
g	gélén périaseal	pl	plasmalemm
gh	gelée hyméniale	pm	périspore moyenne de la paroi de l'ascospore
gl	glycogène	pp	paroi propre de l'ascospore (avec les sous-couches pp1,pp2,pp3)
int	paroi intermédiaire de l'ascospore	ps	paroi de l'ascospore
l	globule lipidique	so	sous-opercule
le	limitante externe de la paroi de l'ascospore	sp	sporoplasme
m	mitochondrie	sr	strate réactive
		zd	zone de déhiscence

ABBREVIATIONS IN PLATES AND FIGURES

a	a layer of the ascus wall	m	mitochondria
as	ascus	n	nucleus
b	b layer of the ascus wall	op	operculum
c	c layer of the ascus wall (with the c1,c2,c3 underlayers)	p	perispore
d	d layer of the ascus wall (with the d1,d2 underlayers)	pa	ascus wall
e	endospore	par	paraphysis
ep	epiplasm	pas	periascus
es	periplasmic space	pe	external part of the perispore
fd	annular cleft in the c layer of the ascus wall	ph	hymenial hair
g	periascus gelin	pi	internal part of the perispore
gh	hymenial jelly	pl	plasmalemma
gl	glycogen	pm	median part of the perispore
int	intermediate layer in the ascospore wall	pp	proper wall of the ascospore (with the pp1,pp2,pp3 underlayers)
l	lipid globule	ps	ascospore wall
le	external boundary of the ascospore wall	so	suboperculum
		sp	sporoplasm
		sr	reactive stratum
		zd	dehiscence zone

LEGENDES DES PLANCHES

Planche I. - *Donadinia helvelloides* (= *Urnula helvelloides*) (Patag). - A: Sommet d'un asque avec une ascospore en maturation. La couche d de la paroi est subdivisée en deux sous-couches d1 et d2, dont seule d1 est fortement Patag⁺. Une mince pellicule claire sépare les couches c et d (flèche). - B: Sommet d'un asque, un peu plus âgé qu'en A. La couche d est un peu plus importante. Son épaisseur est irrégulière. La sous-couche d1, Patag⁺, est aussi plus développée. Dans c (flèche) et d la partie différenciée ne s'étend pas latéralement et pratiquement ne dépasse pas la limite du futur opercule (pas de sous-opercule). - C: Déhiscence de l'asque. Remarquer la zone de déhiscence annulaire interne dans la couche d (zd) et la fissuration annulaire de la couche c (fd), un peu plus externe; en conséquence le rebord du pore apical est en forme de marche d'escalier (flèche). Noter aussi, qu'à ce stade, la seule partie fortement réactive de la paroi est une mince strate au contact des couches c et d (sr).

Plate I. - *Donadinia helvelloides* (= *Urnula helvelloides*) (Patag). - A: Top of an ascus with a maturing ascospore. Two sublayers d1 and d2 are distinct in the d layer; only d1 is strongly Patag⁺. A very thin clear strata is present between the c and d layers (arrow). - B: Top of an ascus somewhat older than A. The d layer of irregular thickness is more important. The d1 sublayer, Patag⁺ is more developed. The differentiated part of the c layer is not so important. In the c and d layers the differentiated part does not extend laterally and really does not overlap the limit of the opercular region. - C: Ascus dehiscence. Note the annular dehiscence zone in the d layer (zd) surrounded by an annular fissuration in the c layer; so, there is a step (arrow) in the ascostoma boundary. At this stage the only strongly reactive part of the wall is a thin strata at the c and d limiting zone.

Planche II. - *Donadinia helvelloides* (= *Urnula helvelloides*) (Patag). - A: Paroi ascale. En profondeur, la couche d n'est pas clairement différenciée - B: Paroi d'ascospore mûre. La paroi propre est épaisse, subdivisée en sous-couches inégalement différenciées. La périspore, qui est ici continue et d'épaisseur irrégulière, comporte une mince sous-couche interne claire et d'aspect festonné (pi) et une sous-couche externe bien développée réactive, avec çà et là, des amas plus denses et plus fortement Patag⁺. - C: Sommet de l'hyménium. Les paraphyses (par), plus longues que les asques, ont des vacuoles à granules caverneux et sont plus larges que les poils hyméniaux (ph) à cytoplasme plus dense.

Plate II. - *Donadinia helvelloides* (= *Urnula helvelloides*) (Patag). - A: Ascus wall. No clearly differentiated d layer exists. - B: Mature ascospore wall. Sublayers are distinct in the thick proper wall; they are inequally differentiated. Here the perispore is continuous and of irregular thickness; its thin internal sublayer is clear and festooned (pi); its external wall is well developed and Patag⁺ with denser and more reactive patches. - C: Hymenium top. Paraphyses (par) whose vacuoles contain cavernous granules are longer than the asci and broader than hymenial hairs (ph) whose cytoplasm is dense.

Planche III - *Plectania melastoma* (Patag). - A: Partie supérieure de l'asque. Une couche d est présente et peu réactive. La couche c est amincie. Ces couches ne montrent pas de différenciations internes. La couche a est importante sous le périascus développé; plus bas elle se desquame. - B: Ascospore, vue d'ensemble. La périspore n'est développée que d'un seul côté de l'ascospore où elle est abondante et très réactive dans sa partie moyenne. Dans le sporoplasme les mitochondries sont abondantes. Dans la paroi de l'asque, le périascus et la couche a, desquamés, sont absents. - C: Détail de la paroi d'ascospore et d'asque. Dans l'ascospore la partie

moyenne de la périspore bien développée a une structure granuleuse dense. La périspore interne est mince et peu réactive. Noter la texture grossièrement granuleuse de pp3 (flèche). Dans la paroi de l'asque la couche a et le périascus sont desquamés.

Plate III. - *Plectania melastoma* (Patag). - A: Apical part of an ascus: a feebly reactive d layer is present. The thickness of the c layer decreases. No internal differentiation exists in these layers. Under the developed periascus the a layer is noticeable: it is desquamated downwards. - B: Ascospore, general view. The perispore, which is only present on one ascospore face, has a well developed and strongly reactive median part. There are many mitochondria in the sporoplasm. The desquamated periascus and a layer are missing. - C: Ascospore and ascus wall (detail). In the ascospore the median part of the perispore has a dense and granulous structure: the internal part of the perispore is thin and feebly reactive. Note the granular texture of pp3 (arrow). In the ascus the desquamated a layer and periascus are missing.

Planche IV. - *Urnula craterium* (Patag). - A: Sommet d'un asque en maturation. Dans la paroi latérale, qui est en partie desquamée (flèche), la couche d est absente. Elle est développée et un peu réactive, mais assez mince, dans le futur opercule où la couche c est amincie et réactive seulement dans sa partie la plus interne. Des globules lipidiques sont présents à la périphérie du sommet de l'épipleme. Le gélif interascal est réactif. - B: Section du bord d'un opercule (où la couche d est mince) et d'une zone de déhiscence. - C: Détail de B. - D: Coupe d'une paroi ascosporelle (à gauche) et d'une paroi ascale (à droite). La paroi ascosporelle, d'inégale épaisseur, est constituée par la paroi propre bien développée contenant des granules réactifs, de tailles diverses, et par la mince paroi intermédiaire; il n'y a pas de périspore. La partie externe de la paroi ascale est desquamée.

Plate IV. - *Urnula craterium* (Patag). - A: Ascus top of a maturing ascus. In the lateral wall, which is in part desquamated, there is no d layer. In the opercular region, where this layer is developed but is relatively thin and feebly reactive, the c layer which is getting thinner is only reactive in a reduced internal part. Lipid globules are present in the external part of the top epipleme. The interascal gelin is reactive. - B: Section of an operculum boundary (where the d layer is thin) and of a dehiscence zone. - C: Detail of B. - D: Section of a young ascospore wall (left) and of an ascus wall (right). The inequally thick ascospore wall is made of the well developed proper wall containing reactive granules of different size and of the intermediary wall. There is no perispore. The external part of the ascus wall is desquamated.

Planche V. - *Pseudoplectania nigrella* (Patag). - A: Apex d'asque avec une ascospore en maturation. La couche d de la paroi est développée mais mince; on y distingue une très fine zone médiane (base de d1), Patag⁺. La couche c est plus mince que dans la paroi latérale et sa partie la plus interne est aussi plus réactive. Le gélif périascal est formé de fines fibrilles transversales. Dans la partie périoperculaire du sommet de l'épipleme, des globules cytoplasmiques sont présents. - B: Stade plus âgé que A. La couche d est lamellaire. Une zone de déhiscence claire est distincte. - C: Coupe un peu latérale d'un apex d'asque, peu avant la déhiscence. La zone de déhiscence, claire, est bien distincte dans la couche d. Dans la paroi ascosporelle la paroi propre est subdivisée en trois sous-couches inégalement différenciées. - D: Paroi d'ascospore en maturation. L'endospore commence à se développer à l'extérieur de l'espace périplasmique clair. - E: Paroi d'ascospore mûre. A l'extérieur de l'espace périplasmique clair l'endospore est plus importante.

Plate V. - *Pseudoplectania nigrella* (Patag). - A: Ascus apex with a maturing ascospore. A thin d layer is present in the wall and contains a very thin Patag⁺ median zone (d1 base). The c layer is thinner than in the lateral wall and is also more reactive. Thin transversal fibrils are distinct in the periascal gelin. The lipid globules of the top epiplasm have a periopercular disposition. - B: Stage older than a. The d layer is lamellar. A clear dehiscence region is distinct. - C: Somewhat lateral section of an ascus apex before dehiscence time. In the d layer a clear dehiscence zone is distinct. In the ascospore wall three sublayers with unequal differentiation exist in the proper wall. - D: Ascospore wall. Outwards of the clear periplasmic space the endospore development begins. - E: Mature ascospore wall. Outwards of the clear periplasmic space the endospore is getting more important.

Planche VI - *Sarcosoma globosum* (Patag). - A: Apex d'asque avec ascospore encore jeune. La couche d de la paroi ascale n'est développée qu'au sommet de l'asque où elle est mince et réactive. La couche c est plus mince à l'apex. Un gélين périascale faiblement Patag⁺ est présent. La paroi ascospore est formée essentiellement par la paroi propre, un peu plus réactive en profondeur. La périspore, d'aspect grisâtre, est à peine développée. L'épiplasma contient des amas de glycogène passant à des vacuoles. - B: Même stade que A. Epiplasma avec ascospores encore jeunes, paroi d'asque et paraphyses. Dans la paroi d'asque, c1, peu réactive, est très mince; c2, bien développée, a un aspect clair; c3, est importante et réactive. Dans l'épiplasma, des amas de glycogène passent à des vacuoles; quelques globules lipidiques sont présents. - C: Sommets des paraphyses. Ils sont revêtus d'un très mince gélين réactif.

Plate VI - *Sarcosoma globosum* (Patag). - A: Ascus apex with a rather young ascospore. In the ascus wall the d layer is only developed at the ascus top where it is thin and reactive. The c layer is getting thinner towards the ascus apex. A feebly reactive periascal gelin is present. The ascospore wall is essentially made of the proper wall whose internal part is a little more reactive. The perispore which is poorly developed looks grey. Glycogen masses turning into vacuoles exist in the epiplasm. - B: Stage as A: epiplasm with rather young ascospores, ascus wall and paraphyses. In the ascus wall the c1 sublayer is very thin and poorly reactive; c2, well developed, has a clear aspect; c3 is important and reactive. In the epiplasm, glycogene masses turn into vacuoles; some lipid globules are present. - C: Paraphyse tops. They are covered with a very thin and reactif gelin.

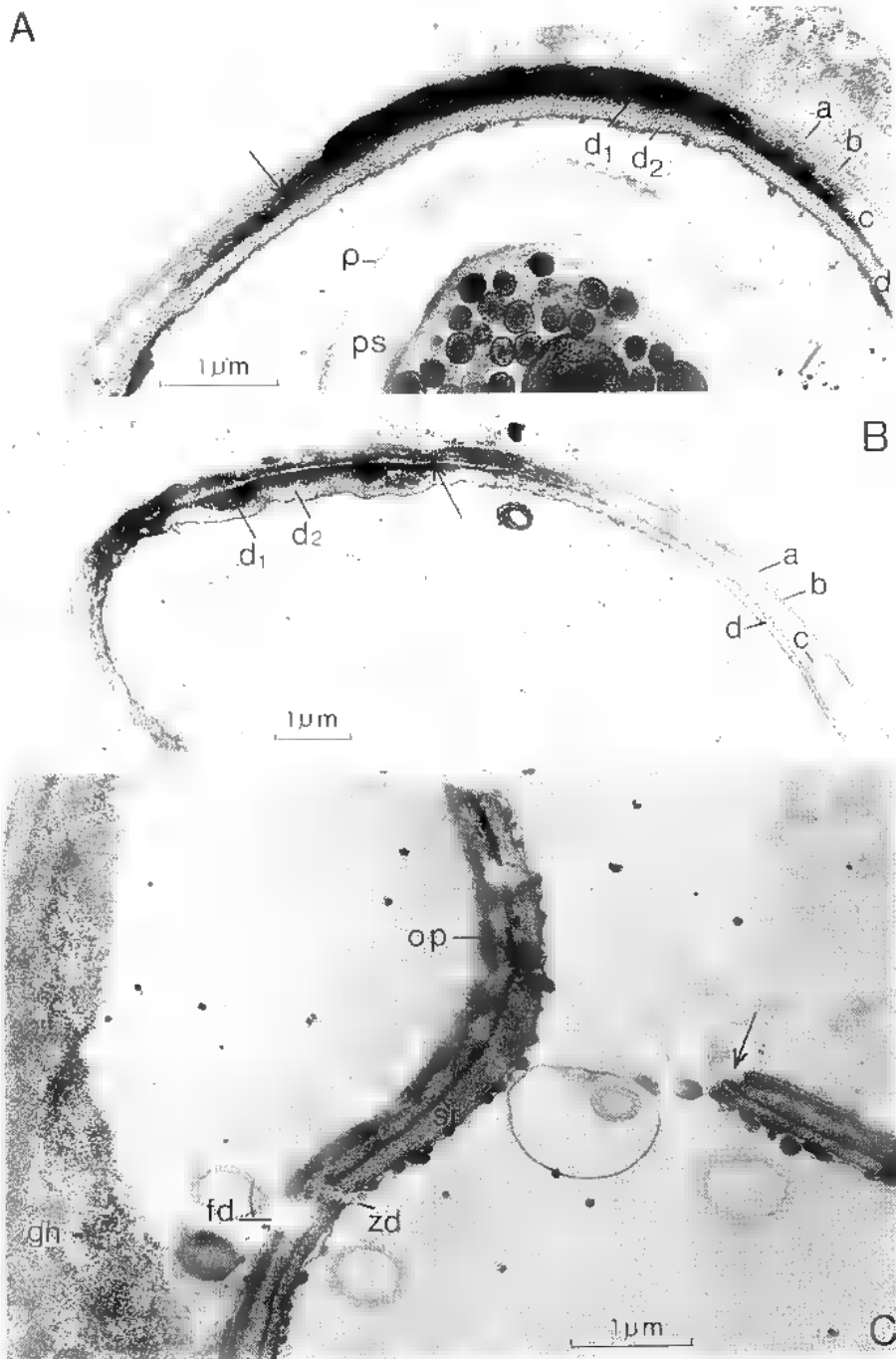
Planche VII. - *Galiella rufa* (Patag). - A: Sommet d'asque. Il n'y a pas de couche d dans la paroi. L'épaisseur de la couche c est réduite à l'apex de l'asque où la sous-couche c3, amincie, devient fortement réactive, mimant la couche d des espèces des planches précédentes. - B: Asque déhiscent. L'opercule est mince. A la charnière de l'opercule la sous-couche c3 est épaissie et moins réactive (flèche).

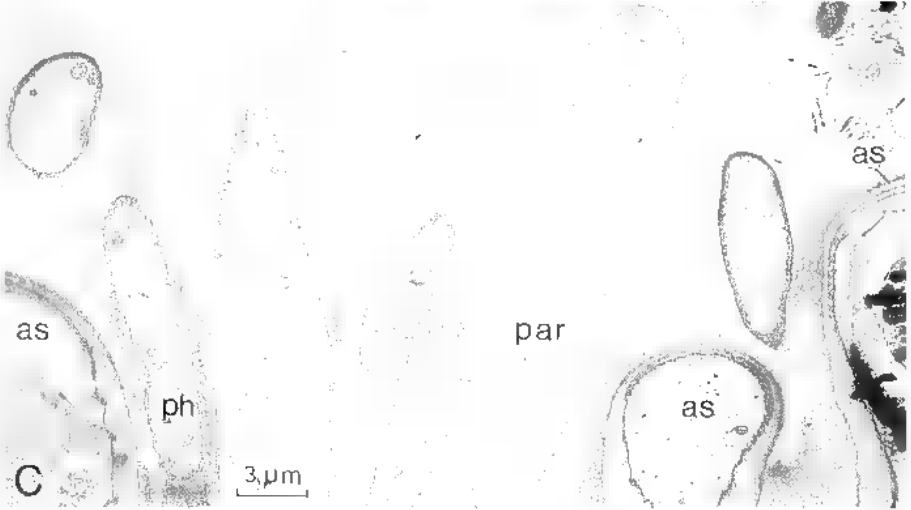
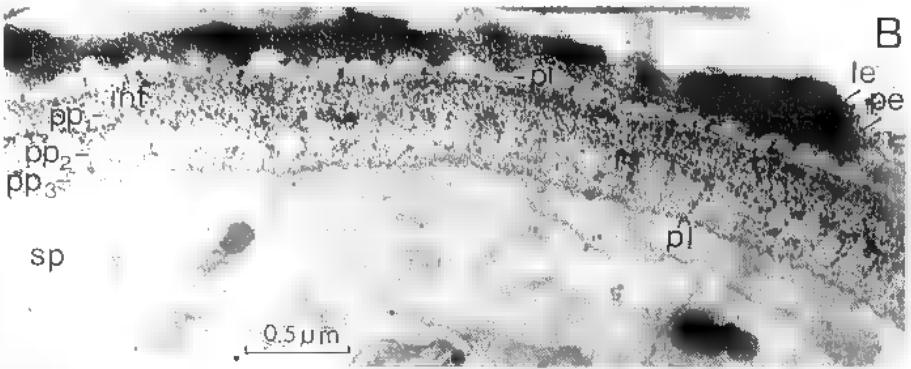
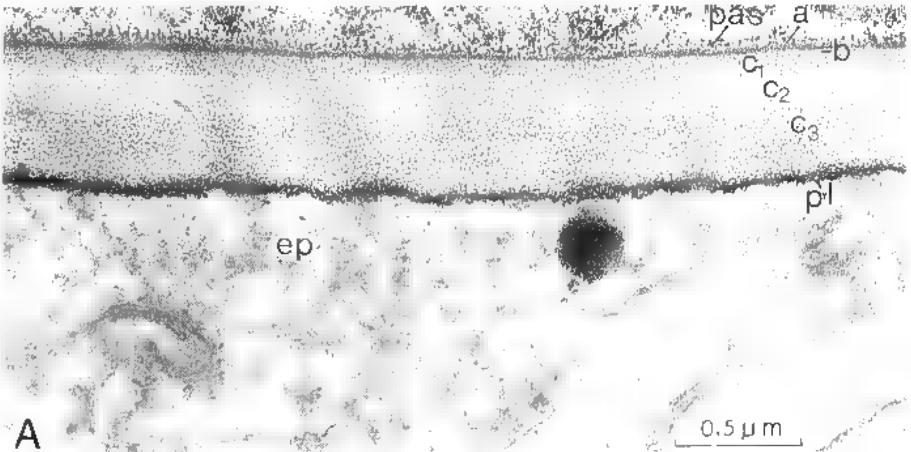
Planche VII - *Galiella rufa* (Patag). - A: Ascus top. No d layer is observed in the ascus wall. The thickness of the c layer gets reduced at the ascus apex where the c3 sublayer gets thinner and strongly reactive miming so the d layer of the above mentioned species. - B: Dehiscent ascus. The operculum is thin. At the operculum joint the c3 sublayer is thick and feebly reactive (arrow).

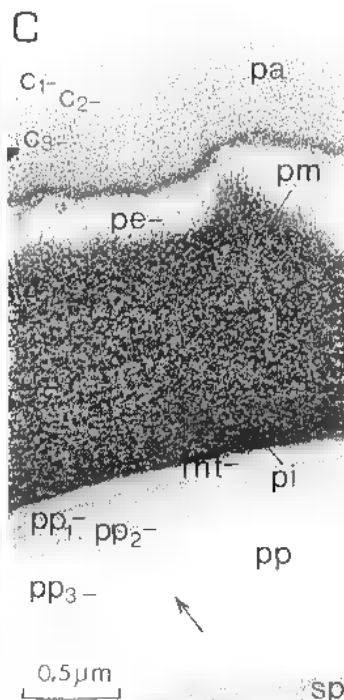
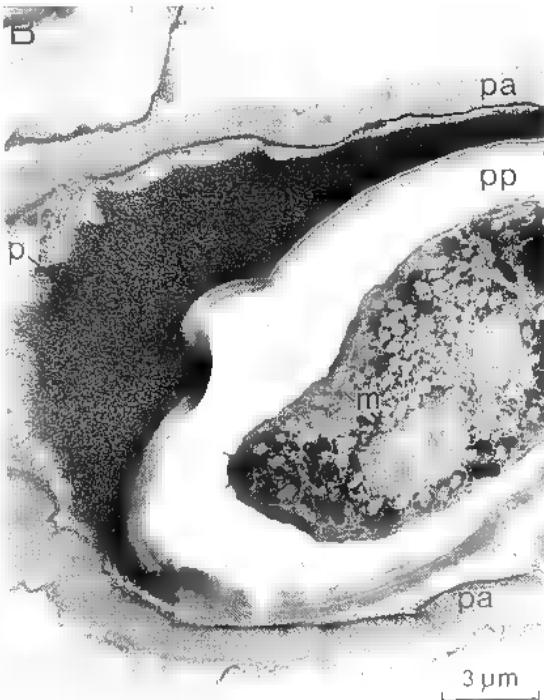
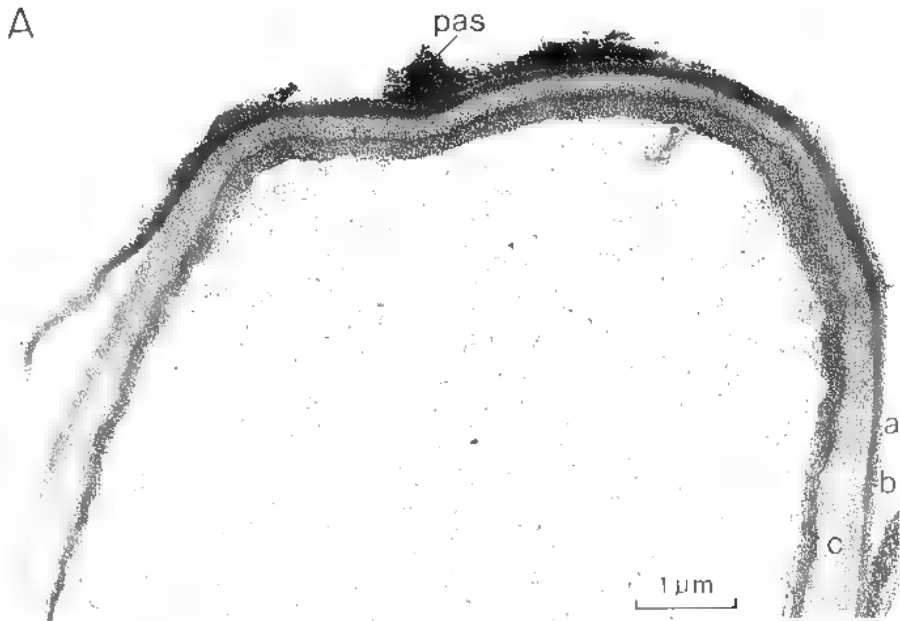
Planche VIII. - *Galiella rufa* (Patag). - A: Paroi d'ascospore en maturation. Sous la périspore externe, un peu réactive et d'épaisseur irrégulière, la périspore interne est très mince et claire. La paroi intermédiaire, très mince, apparaît comme une zone sombre. La paroi propre, très épaissie, comporte 3 sous-couches d'épaisseur et de réactivité différentes. - B: Paroi d'ascospore mûre. La structure de la paroi pro-

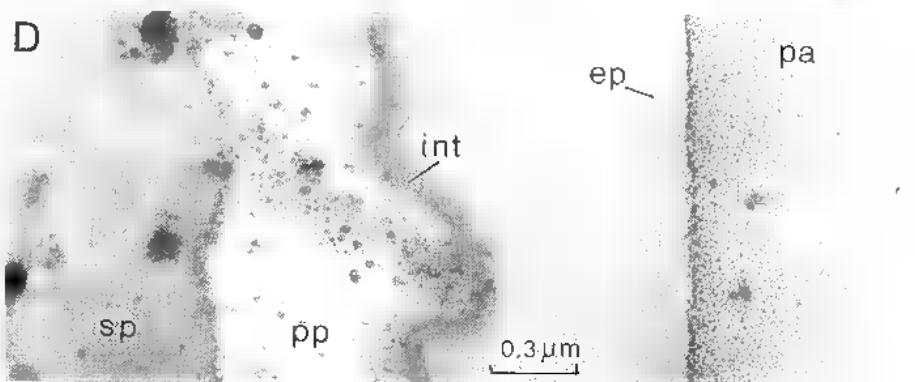
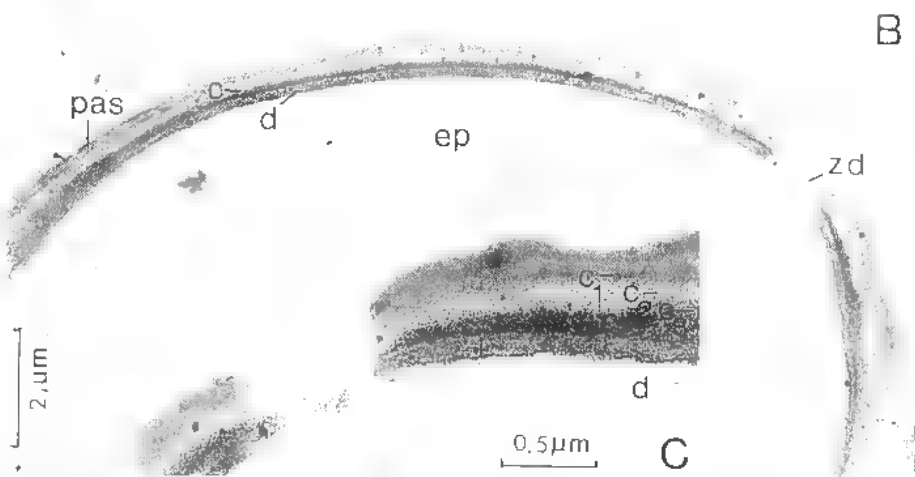
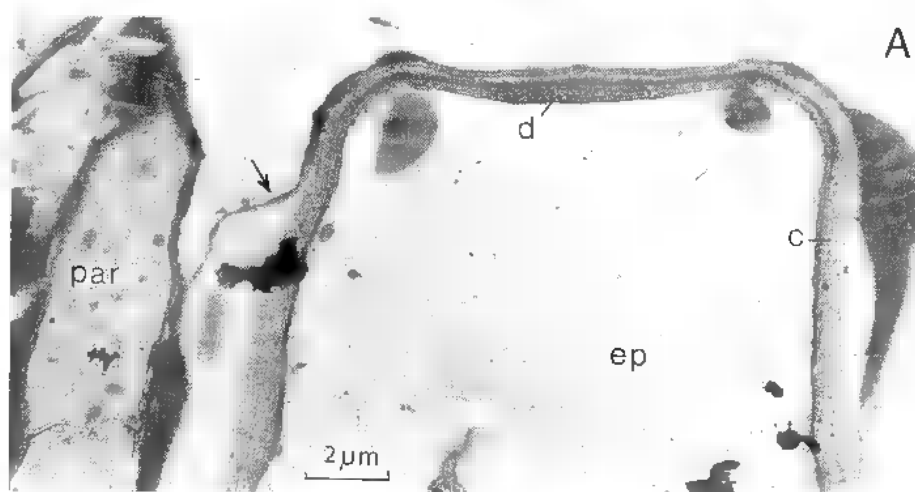
pre est masquée par un abondant dépôt de fins granules Patag⁺, qui sont moins nombreux dans la partie externe de la paroi. - C: Sommet des paraphyses.

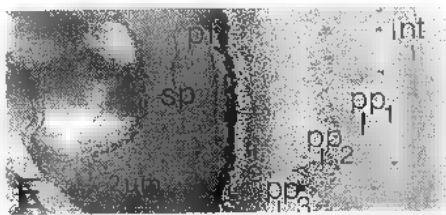
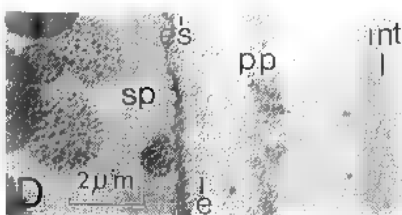
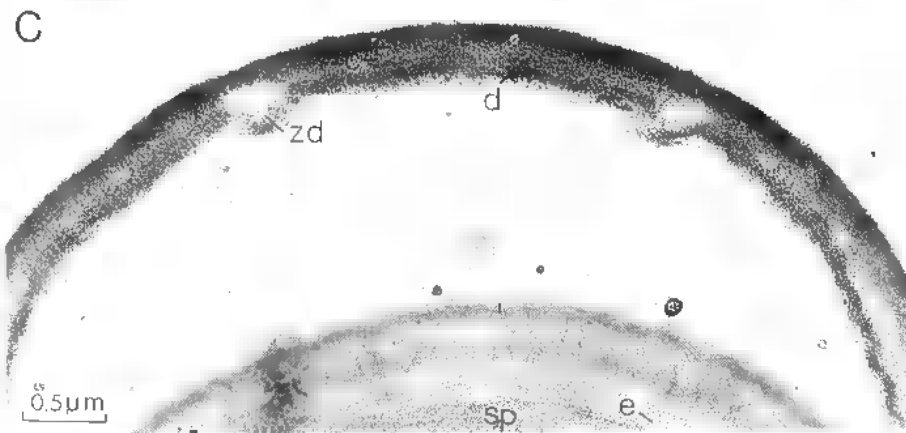
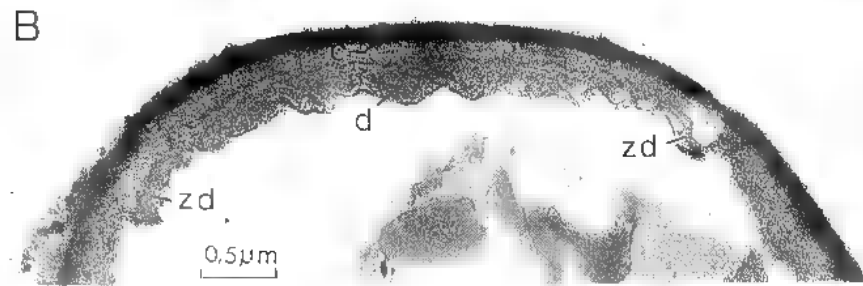
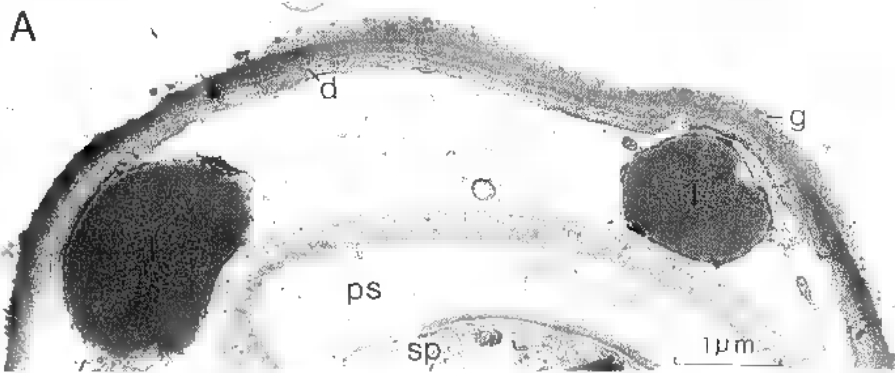
Plate VIII. - *Galiella rufa* (Patag). - A: Maturing ascospore wall. The external part of the perispore is feebly reactive and irregularly thickened. Below, the internal part of the perispore is very thin and clear. The intermediary wall, very thin, looks like a dark zone. The very thick proper wall consists in three sublayers whose thickness and reactivity differ. - B: Mature ascospore wall. An abundant deposition of small reactive granules hides the proper wall structure; these granules are not so numerous in the external part of the wall. - C: Paraphyse tops.

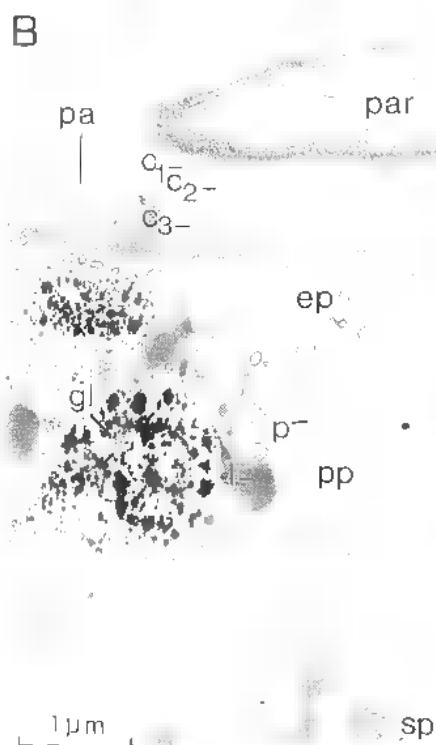
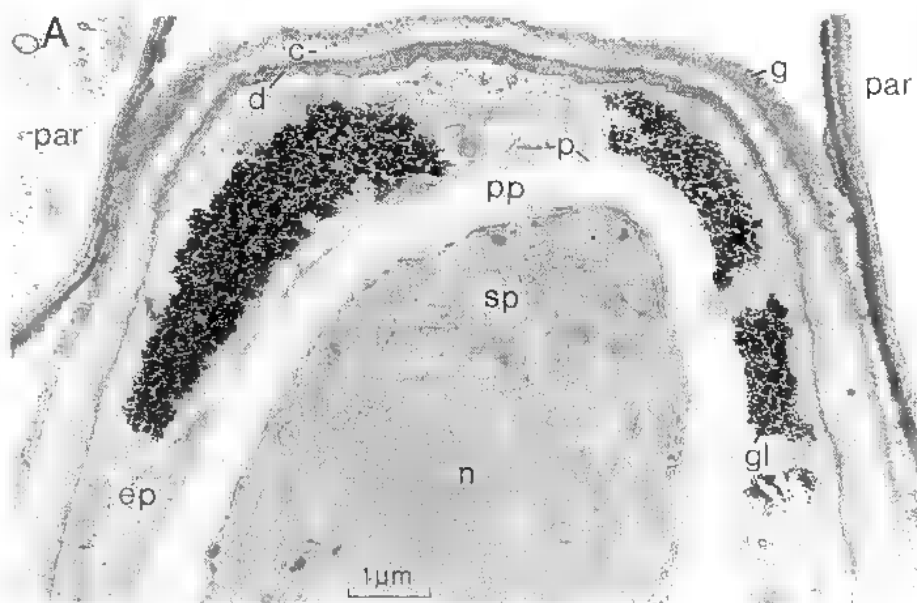


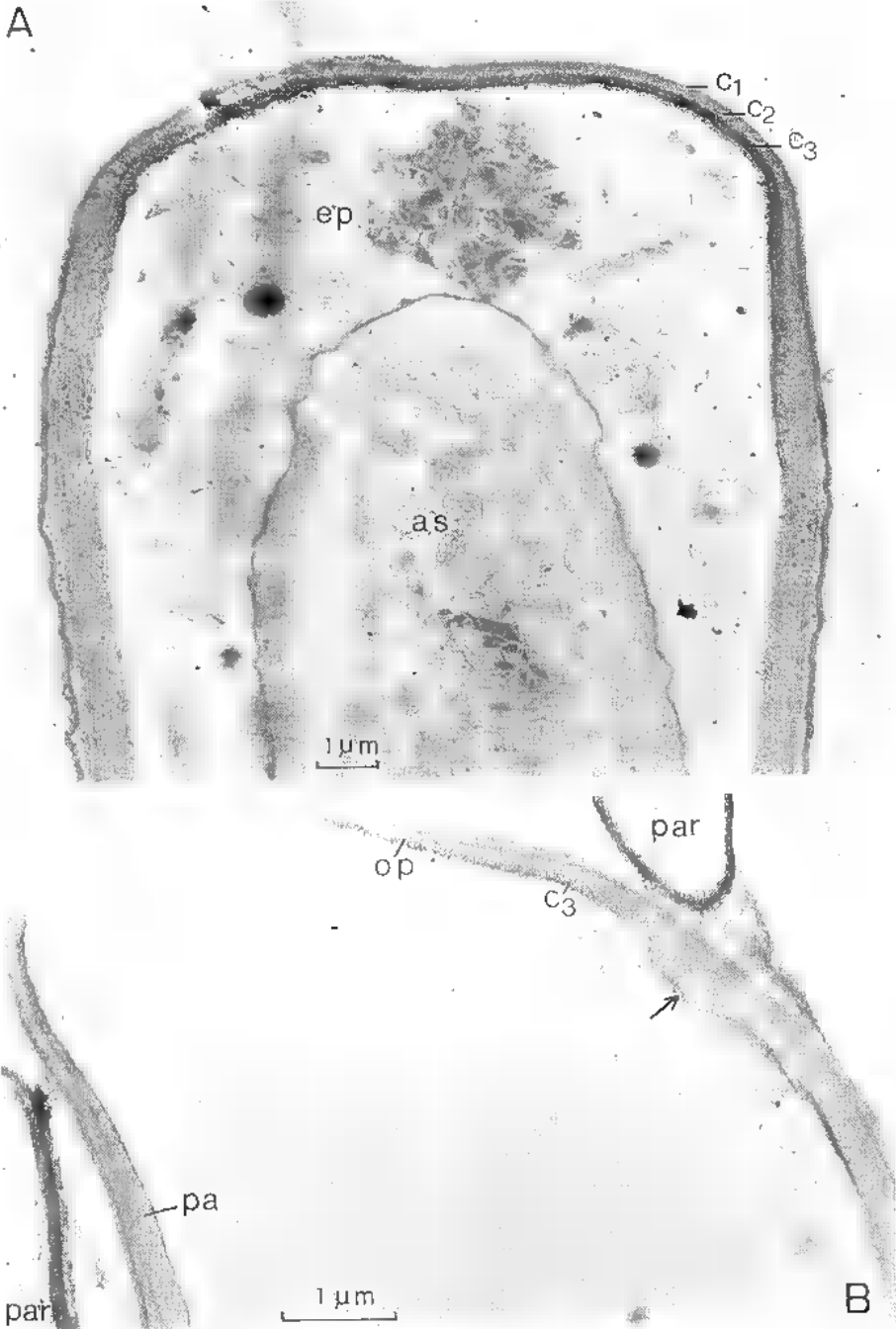


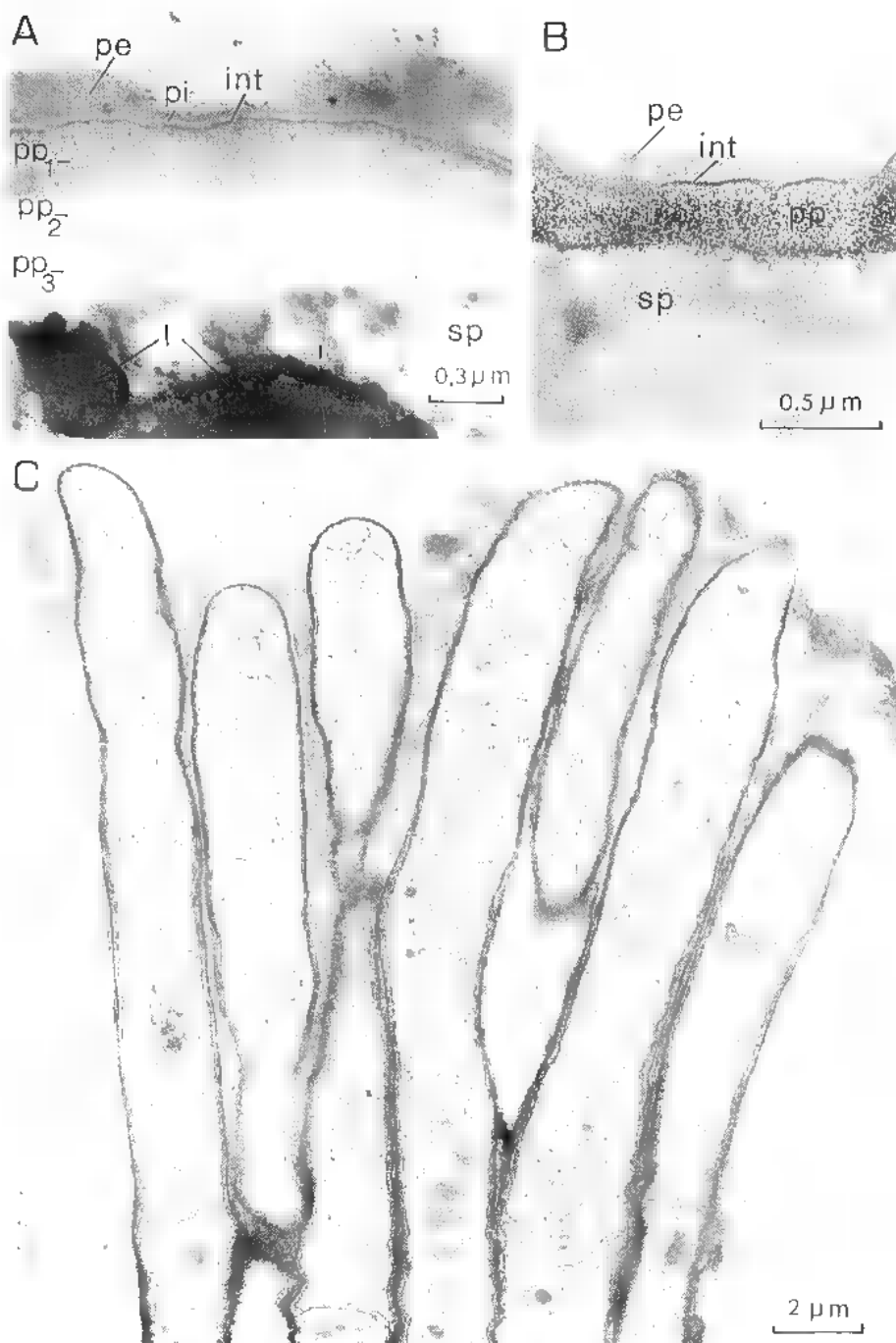












ANALYSES BIBLIOGRAPHIQUES

ARX Von J.A. f, FIGUERAS M.J. and GUARRO J., 1988 - Sordariaceous Ascomycetes without Ascospore Ejaculation. *Beih. Nova Hedwigia* 94, 104p.

L'auteur principal de cet ouvrage, le Dr. J.A. Von ARX, nous a quittés alors que ce document était sous-pressé. Avec sa disparition, la mycologie perd un de ses éléments-moteurs les plus marquants de la deuxième moitié de ce siècle. Expert éminent de la taxonomie des champignons microscopiques, von Arx a été extrêmement productif au cours de sa carrière (1949-1988). Il signa près de 180 publications portant sur une large variété de micromycètes filamenteux et sur des levures, domaine où sa contribution a été décisive. Le Centraalbureau voor Schimmelcultures (Baarn, Pays-Bas), qu'il dirigea avec passion durant quelques décennies, vient de lui consacrer un volume de sa revue *Studies in Mycology*.

L'ouvrage proposé constitue une "retombée" de l'excellente étude réalisée par les mêmes auteurs du genre *Chaetomium*; en effet, la révision d'espèces classées, à tort ou à raison, dans ce genre avait conduit au cumul d'un certain nombre d'informations, point de départ de cette synthèse taxonomique. Son organisation est relativement traditionnelle: une introduction, une clé dichotomique des genres abordés et un texte descriptif sont suivis d'une liste des espèces exclues ou douteuses, une bibliographie comportant les références les plus marquantes, un index des espèces, genres et familles cités et, enfin, une solide iconographie de 44 planches.

Dans l'introduction, les auteurs soulignent leur préférence au maintien des ascomycètes Sordariales dans l'ordre des Sphaariales et proposent le nouveau sous-ordre *Sordarinae* pour regrouper les familles suivantes: Sordariaceae, Lasiosphaeriaceae, Coronophoraceae, Chaetomiaceae, Thielaviaceae, Microascaceae, Pithoascaceae et Melanosporaceae. L'ouvrage porte sur un ensemble de 21 genres sans éjection de spores. Pour chaque genre, les auteurs fournissent une description générique détaillée avec indication de l'espèce-type, suivie d'un court commentaire comportant les références importantes et une clé des espèces traitées. Pour chacune de ces dernières figure une liste exhaustive des synonymes connus ou proposés, une description des caractères morphologiques établis d'après cultures et quelques brèves annotations. Les 80 espèces analysées sont celles pour lesquelles il existe des cultures vivantes sporulantes dans les collections mycologiques du Centraalbureau voor Schimmelcultures; les autres espèces connues, mais non représentées dans ces mêmes collections, sont simplement évoquées dans le texte.

La particularité de cette étude réside dans les illustrations photographiques. Chacune des 44 planches de cette iconographie concerne un ascomycète particulier et se compose d'une combinaison variable de micrographies des divers éléments d'un ascomycète: ascومات, fulcres d'ornementation des ascومات ou structure de la paroi périthiale, asques et ascospores. Ces illustrations, préparées à partir de matériel vivant de référence et inédites pour la plupart, ont un rendu et un contraste excellent et sont présentées dans un format adéquat.

L'association de cette importante iconographie et d'un texte descriptif détaillé et uniforme pour l'ensemble des espèces traitées fait de cet ouvrage un outil de référence de choix pour toute personne intéressée par la taxonomie de ce groupe d'ascomycètes. Il reste aux mycologues spécialisés dans l'étude de ce même groupe d'apporter le complément d'informations nécessaires pour réaliser de véritables

monographies des genres abordés, dont l'importance de certains en mycologie médicale n'est plus à démontrer.

J. Mouchacca

WILDING N., COLLINS N.M., HAMMOND P.M. and WEBBER J.F., 1989 - Insect-Fungus Interactions. 14ème Symposium de la Société Entomologique Royale de Londres en collaboration avec la Société Mycologique Britannique. London, Academic Press, 344p.

La "mycologie de l'insecte" a fait des progrès marquants au cours de cette dernière décade. Ceux-ci soulignent la nécessité qu'il y a aujourd'hui de mener des recherches dans des domaines dits d'"interfaces" entre les champignons et les insectes. En effet, comme on peut l'imaginer, les interactions entre les éléments de ces deux ensembles biologiques sont multiples et variés. Ainsi, outre des cas connus de dépendance totale de l'insecte vis-à-vis du champignon, en tant que fournisseur de substances énergétique, ou de dépendance totale du second sur le premier, il existe toute une palette de situations d'interdépendances qui restent à explorer.

Cette diversité de rapports se reflète dans la multiplicité des disciplines scientifiques dont relèvent les chercheurs intéressés par l'étude des champignons, des insectes et de leurs interactions: entomologie, mycologie, phytopathologie, foresterie, écologie, pathologie de l'insecte, médecine, etc... Cette multiplicité est source de cloisonnement de l'information, que seul un forum permettant un dialogue multidisciplinaire peut atténuer. Un premier pas dans ce sens a été accompli par la Société Entomologique Royale de Londres qui a tenu en 1987 un symposium d'audience internationale, avec la Société Mycologique Britannique, sur le thème "Interaction Insectes-Champignons".

Le volume résultant de ce symposium rapporte une dizaine de contributions majeures. Après une préface et des remerciements, le discours d'ouverture prononcé par le Président de la Société Entomologique définit clairement les 4 axes interactifs débattus: insectes mycophages, relations mutualistes, insectes vecteurs de maladies fongiques de plantes et champignons pathogènes des insectes. Chacun des articles représente le premier essai de synthèse du sujet traité, dans ce domaine passionnant des interactions, dont on commence justement à entrevoir les implications en écologie, en conservation et protection des récoltes.

La mycophagie chez les insectes, en particulier chez les Coléoptères, s'avère associée à des adaptations morphologiques dissemblables pour les éléments microphages ou macrophages, ces derniers étant les consommateurs des larges fructifications des Basidiomycètes. Les relations mutualistes abordées couvrent des domaines originaux, bien diversifiés; par exemple, le cas des liens entre les termites Macrotermittinae et les Basidiomycètes, surtout du genre *Termitomyces* Heim, liens dont la compréhension totale n'est pas encore élucidée, ou celui des termites myrmécophiles néotropicales "coupeurs de feuilles", où les recherches sont encore au stade embryonnaire. Sont également analysés les liens entre l'habitat écorce, Coléoptères ambrosiens et champignons, sources de dégâts économiques significatifs dans le domaine forestier. Le rôle des insectes en tant que vecteurs de maladies fongiques de plantes est actuellement bien perçu, par suite des ravages occasionnés par les Scolytes de la maladie de l'Orme, en Europe, Asie Centrale et Amérique du Nord; là aussi, des recherches sont encore nécessaires pour éclaircir ce type de rapport mutualiste. Enfin, les progrès dans la simple connaissance taxonomique des champignons entomopathogènes sont évoqués.

Il reste à préciser que la particularité de cet ouvrage réside dans un compte rendu complet des interactions mycophagiques connues, présenté dans un appendice commenté. Ces cas d'interactions sont répertoriés dans une série de tableaux, après une ventilation sur la base des affinités taxonomiques des champignons et des insectes incriminés. Dans ce répertoire, les champignons et les insectes sont affectés d'un code numérique, rapporté dans le texte de l'ouvrage. Cette technique permet au lecteur de situer très rapidement un binome non familier au sein d'une classification taxonomique.

Les chapitres de cet ouvrage proposent une foule d'informations diverses que les mycologues et les entomologues, au sens large du terme, n'ont pas l'habitude de trouver dans leurs documents spécialisés respectifs. A cet égard, sa publication est une étape décisive dans la compréhension des multiples interactions entre les composants de ces groupements bien complexes que sont les champignons et les insectes.

J. Mouchacca

CORNER E.J.H., 1989 - Ad Polyporaceae V. *Beih. Nova Hedwigia* 96, 218p., 20 fig.

This is the fifth of a six-volume series in which Professor Corner provides, as his main purpose, descriptions of tropical, poroid basidiomycetes known to the author from personal experience. The final volume will cover, the trimitic species placed in *Trametes* s. lato. Once again, emphasis is given to his dislike for the use of the type-system and so once again polypore taxonomists will have to add well over 100 new species names to the nomenclatural mountain already in existence. It is difficult to believe that it is necessary to describe over 60 new species of *Tyromyces* from a relatively limited geographical range.

The volume offers two areas of real value to the reader, a detailed discussion on generic delimitation and, secondly, new and personal observations on basidiome growth in 11 tropical species. The latter observations conclude that there are two main types of basidiome formation which may well offer phyletic insights. The basidiomes may have inflating hyphae and, as in the Agaricales, growth is rapid with stipe formation completed prior to pileal development. Interestingly, this group includes the genera *Buglossoporus* and *Heteroporus*. In the alternative group the hyphae are non-inflated and growth is gradual but continuous.

The discussions on generic delimitation certainly pose more questions than are answered, and probably rightly so. As Prof. Corner so clearly states "I doubt if enough of the polypore flora of the world is known to ensure any genus". The volume considers the genera *Albatrellus*, *Boletopsis*, *Corioloropsis*, *Cristoporia*, *Diacanthodes*, *Elmerina*, *Fomitopsis*, *Gloeoporus*, *Griofola*, *Hapalopilus*, *Heterobasidion*, *Hydnopolyporus*, *Ischnoderma*, *Loweoporus*, *Parmastomyces*, *Perenniporis*, *Pyrofomes*, *Stecchericium*, *Trechispora*, *Truncospora* and *Tyromyces*. These constitute the monomitic and dimitic, non-xanthochroic, poroid genera. The following links are suggested: *Corioloropsis* (which includes dimitic species) with *Fomitopsis*; *Tyromyces*, *Gloeoporus* (which includes *Bjerkandera*) and *Hapalopilus*; *Loweoporus* is expanded to include both di- and trimitic species, whilst *Tyromyces* now includes mono-, di- and trimitic species. Finally, the genera *Amylonotus*, *Wrightoporia* and *Amyloporus* are absorbed within *Stecchericium*.

In all, there are 116 species described as new to science, 30 new varieties, and 9 new combinations are proposed. The text-figures, although few in number, are excellent mostly depicting hyphal structure, and there are numerous, sometimes lengthy, keys. One may not always agree to the views expressed by the author, but he has a

rare and original approach to these difficult fungi and it is always worthwhile to read and digest his thoughts.

D.N. Pegler

PIROZYNSKI K.A. and HAWKSWORTH D.L., 1988 - Coevolution of fungi with plants and animals. London, Academic Press, 285p., ill.

L'objet de ce volume est d'attirer l'attention sur la grande diversité des associations champignons-organismes vivants, animaux et plantes, dans lesquelles peuvent être appréhendés les indices d'une coévolution comme facteur essentiel dans leur développement. Dans de nombreux cas, il n'y a pas de preuve de changements génétiques réciproques - marques d'une coévolution -, mais plutôt une évidence circonstancielle tirée des observations écologiques et biologiques.

Ces associations offrent donc un potentiel considérable pour une étude critique de la coévolution: les relations entre les composants individuels devant être regardés en termes de bénéfices écologiques, de responsabilité des symbiontes, et pas seulement en termes d'antagonisme ou de mutualisme.

Les premières contributions de cet ouvrage exposent les associations champignons-organismes photosynthétiques: les champignons hétérokontes (Protoctista) et plus particulièrement les relations biochimiques mildiou-phanérogames hôtes; les conséquences systématiques et les implications pratiques pour la protection de la coévolution des champignons pathogènes avec leurs hôtes; les associations mutualistes champignons-plantes vasculaires, et notamment celles des champignons endophytes produisant des toxines protégeant l'hôte des herbivores; la coévolution champignons-hépatiques considérée comme facteur significatif dans l'évolution des hépatiques bien que la physiologie de ces relations demeure obscure; structures, produits et stratégies coévolués dans les symbioses mutualistes entre champignons et algues et/ou cyanobactéries formant les lichens, soulevant le problème de l'"altruisme" du partenaire photosynthétique.

Le deuxième groupe de contributions porte sur les champignons associés aux animaux: biologie et physiologie des champignons entomopathogènes en relation avec leurs hôtes; métabolites secondaires et leurs rôles comme système de défense chimique chez les arthropodes et les rodentes, avec comme implication pratique, le biocontrôle; les galles ambrosiées et la spécificité fongique de certaines larves, où l'association est apparemment mutualiste, et, dans les cécidies formant les galles, plésiotype.

Enfin, dans le cas des plantes à mycorrhizes, il y a évidence circonstancielle pour une coévolution des structures et des stratégies dans la dispersion concomitante des spores et des graines par les vertébrés. Chez les Agrobacterium, il y a un transfert horizontal de gènes entre organismes de différentes natures. L'assimilation par les plantes-hôtes de matériel génétique fongique capable d'induire des déformations pourrait apparaître dans les organes des angiospermes, tels les fleurs, les fruits, les organes de stockage de substances nutritives.

Si la lecture de ce livre relance, notamment parmi les mycologues, des études et un débat constructif sur l'importance de la coévolution comme facteur majeur de l'évolution à la fois des champignons et de leurs hôtes, les éditeurs auront atteint leur but.

D. Lamy



Commission paritaire n° 58611
Dépôt légal n° 15208 - Imprimerie de Montligeon
Sortie des presses le 20 septembre 1990
Imprimé en France
Éditeur : A.D.A.C. (Association des Amis des Cryptogames)
Président : A. Couté; Secrétaire : D. Lamy
Trésorier : R. Baudoin; Directeur de la publication : H. Causse

CRYPTOGAMIE — MYCOLOGIE

BUREAU DE RÉDACTION

- MM. DURRIEU G., pour les articles traitant d'Écologie et de Phytopathologie
Laboratoire de Botanique, Faculté des Sciences,
Allées Jules Guesde, 31 000 Toulouse (France).
- JOLY P., pour les articles traitant de Systématique
Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire Naturelle
12, rue de Buffon, 75005 Paris (France).
- MANACHERE G., pour les articles traitant de Physiologie
Laboratoire de Mycologie, Université de Lyon I,
43, Bd du 11 Novembre 1918, 69622 Villeurbanne Cedex (France).
- Mmes ZICKLER D., pour les articles traitant de Cytologie
Laboratoire de Génétique, Université de Paris Sud,
Bât. 400, Centre d'Orsay, 91405 Orsay (France).
- ROQUEBERT M. F., s'occupera des autres spécialités.
Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire Naturelle
12, rue Buffon, 75005 Paris (France).

COMITÉ DE LECTURE

- | | |
|---|------------------------------------|
| BOIDIN J., Lyon (France) | MONTANT Ch., Toulouse (France) |
| CHEVAUGEON J., Orsay (France) | MOREAU Cl., Brest (France) |
| GAMS W., Baarn (Hollande) | PEGLER D.N., Kew (Grande-Bretagne) |
| HENNEBERT G., Louvain-la-Neuve (Belgique) | SUTTON B., Kew (Grande-Bretagne) |
| LACOSTE L., Paris (France) | TURIAN G., Genève (Suisse) |

Les manuscrits doivent être adressés (en 2 exemplaires) directement à un membre du Bureau de Rédaction, choisi pour sa spécialité. Le Bureau peut demander l'avis d'un lecteur choisi pour sa spécialité, même s'il n'appartient pas au Comité de lecture.

Bien qu'étant avant tout une revue de langue française, les articles rédigés en Anglais, Allemand et Espagnol sont acceptés.

Les recommandations aux auteurs sont publiées dans le 1er fascicule de chaque tome.

ABONNEMENTS A CRYPTOGRAMME

Tome IV, 1990

CRYPTOGRAMME (pour les particuliers)
 Abonnements : Belgique, France, Allemagne, Suisse, Pays-Bas

Abonnement annuel (incluant 6 numéros) 1990
 France 120 F
 Belgique 125 F
 Pays-Bas 125 F

Abonnement annuel (Suisse et Liechtenstein)
 France 120 F
 Belgique 125 F
 Pays-Bas 125 F

Les commandes doivent être adressées à : REVUE DE MYCOLOGIE ET CRYPTOGRAMME, 156 bd Oudinot, 75004 Paris, France

MEMOIRES HORS SERIE

- N° 1 - 1942 - Les matières colorantes des champignons, par I. Pasta - 88 pages - 15 F
- N° 3 - 1943 - Les constituants de la membrane chez les champignons, par R. Ulrich - 44 pages - 15 F
- N° 6 - 1958 - Essai biotaxonomique sur les Hydres resupines et les Corticies, par J. Boidin - 396 pages, pl. et fig. - 120 F
- N° 7 - 1959 - Les champignons et nous (chroniques - II) par C. Becker - 94 pages - 25 F
- N° 8 - 1966 - Catalogue de la Mycothèque de la Chaire de Cryptogamie du Muséum National d'Histoire Naturelle - I. Micromycètes, Macromycètes, première partie - 68 pages - 25 F
- N° 9 - 1967 - Table des Matières (1936-1965) - 85 pages - 20 F
 (1966-1975) - 30 pages - 10 F

FLORE MYCOLOGIQUE DE MADAGASCAR ET DEPENDANCES publiée sous la direction de M. Roger HENRI

- Tome I - Les Lactaria Russules, par Roger Henri - 1938 - 16 pages
- Tome II - Les Rhodophylles, par Henri Romagnesi - 1943 - 164 pages - 46 fig. - 90 F
- Tome III - Les Mycènes, par Georges Mettrod - 1949 - 144 pages - 88 fig. - 90 F
- Tome IV - Les Discomycètes de Madagascar, par Marcelle Le Gal - 1953 - 465 pages - 172 fig. - 150 F
- Tome V - Les Uredinees, par Gilbert Bouquet et J. P. Basso - 1965 - 186 pages - 97 fig., 4 pl. hors texte - 90 F

Règlements

- par chèque postal au nom de : C. C. P. - CRYPTOGRAMME
- 12 rue Buffon, 75005 Paris - C. C. P. - La Seine 54 764 055
- par chèque bancaire établi au même ordre